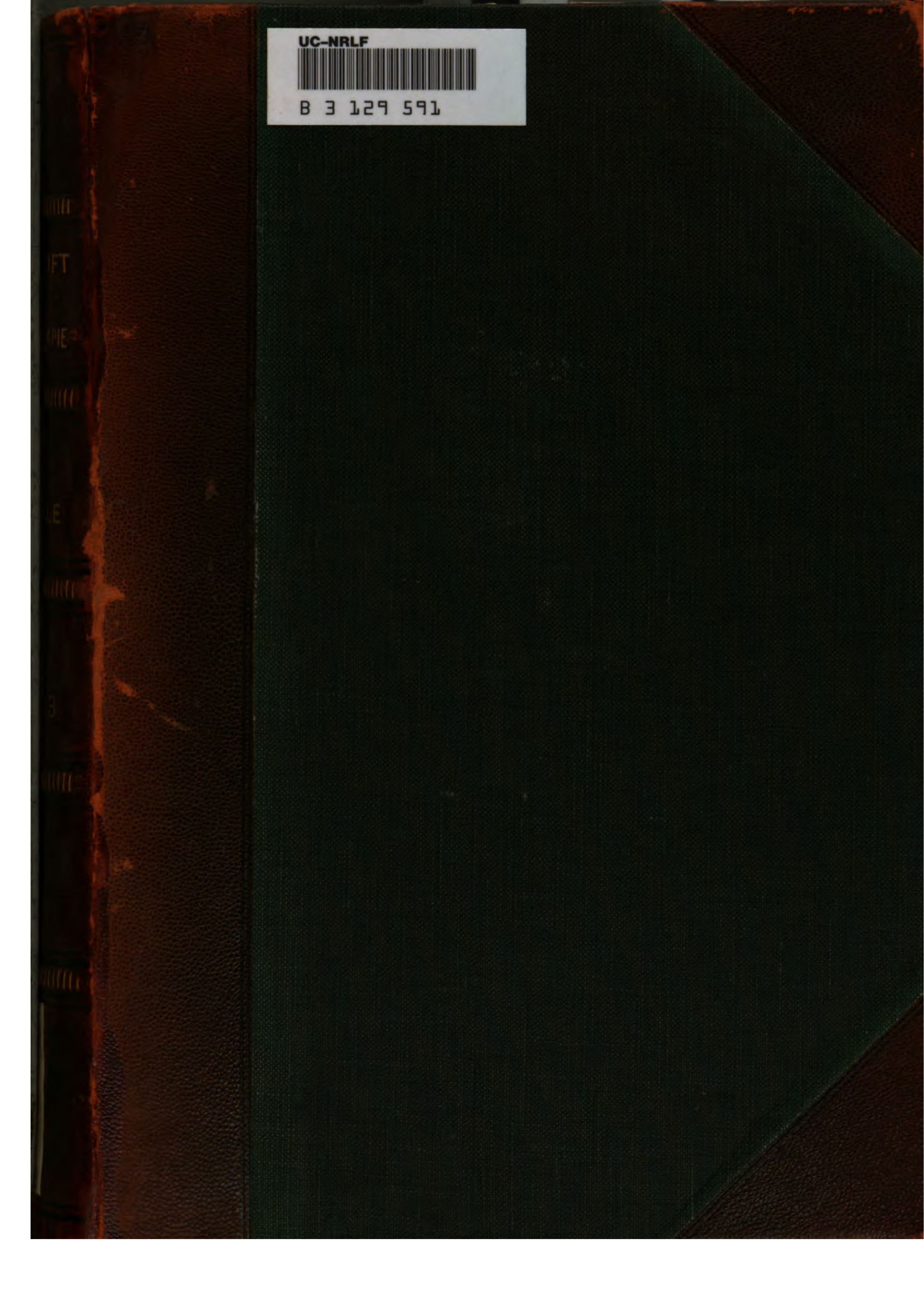
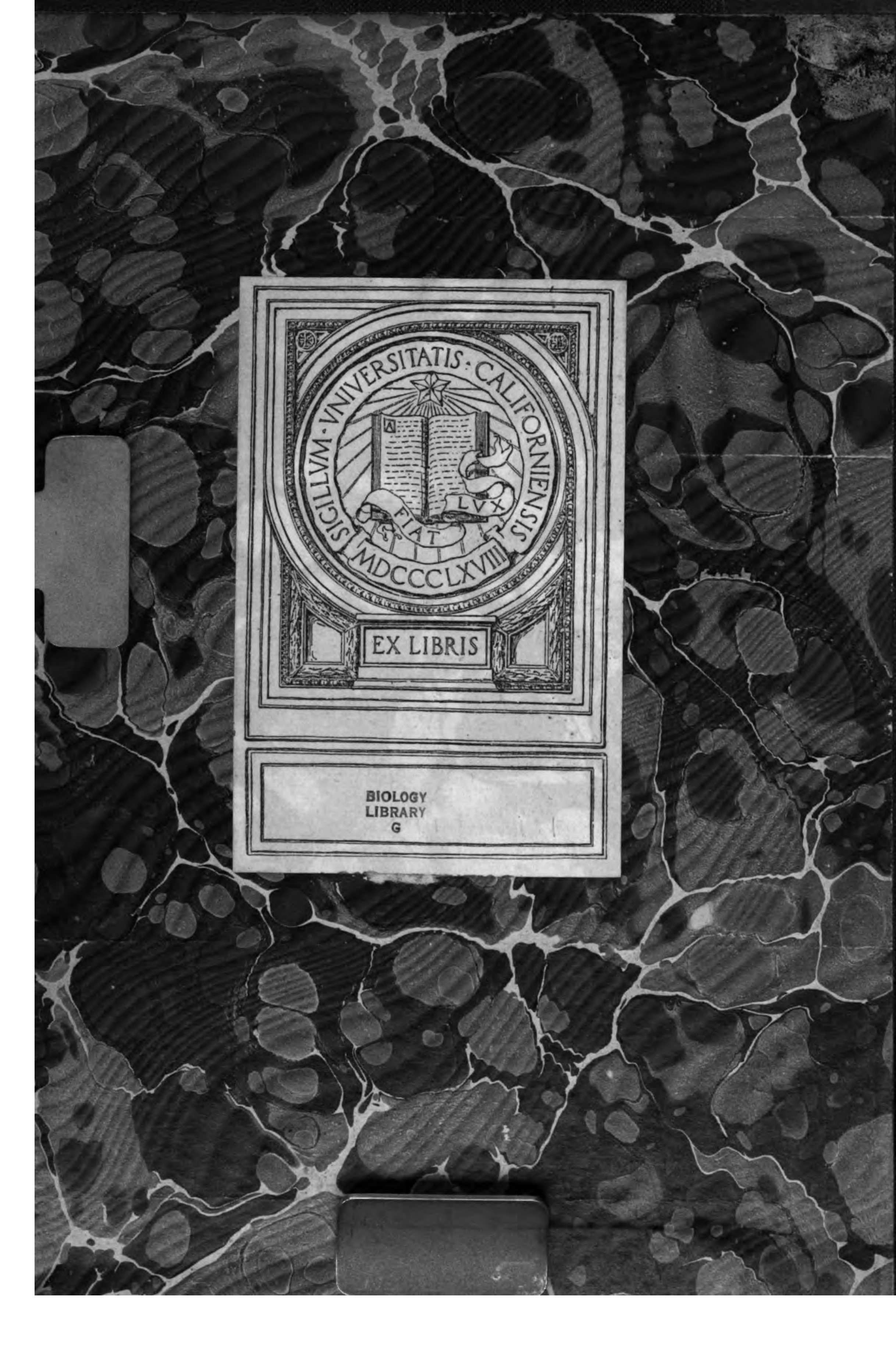
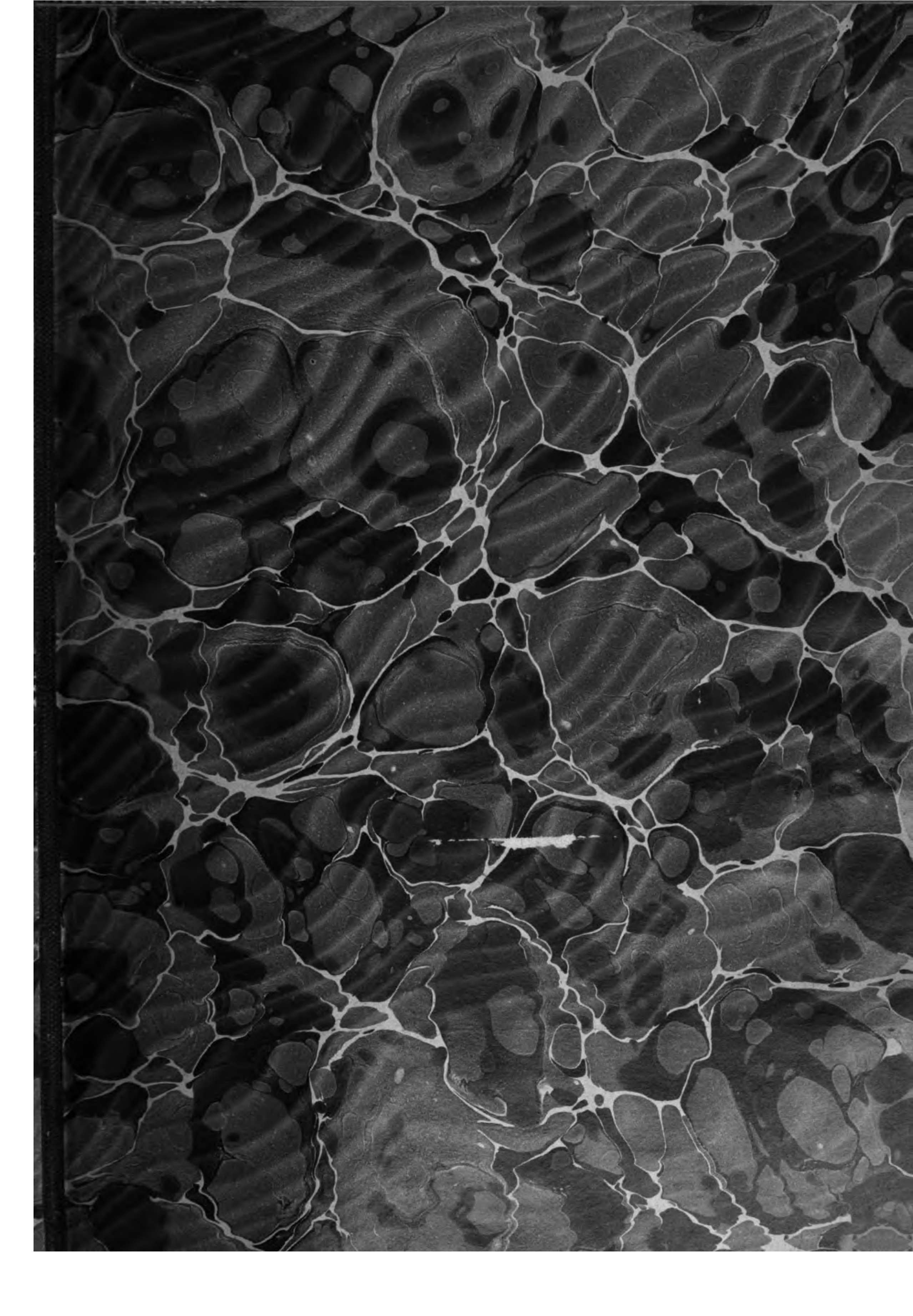
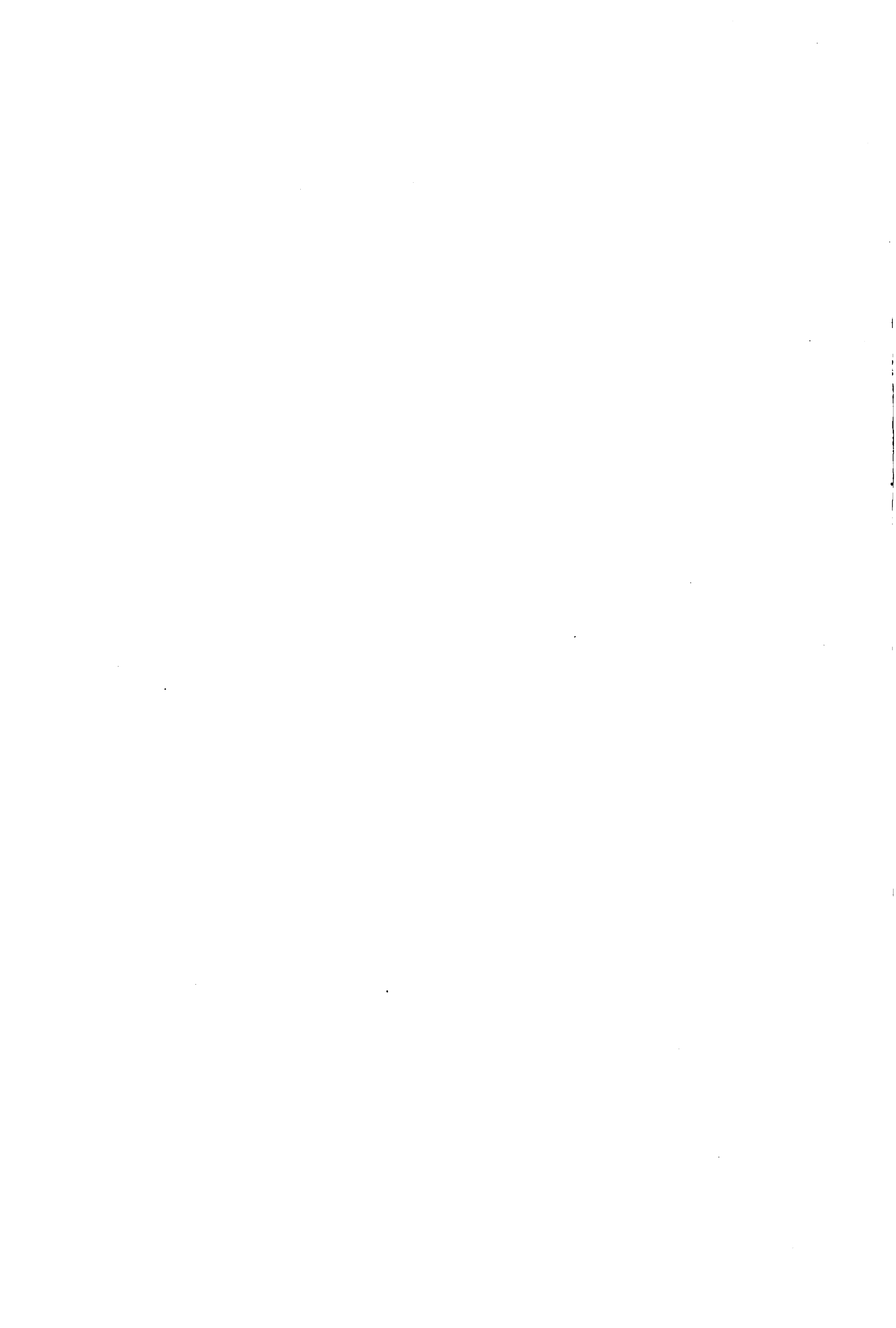
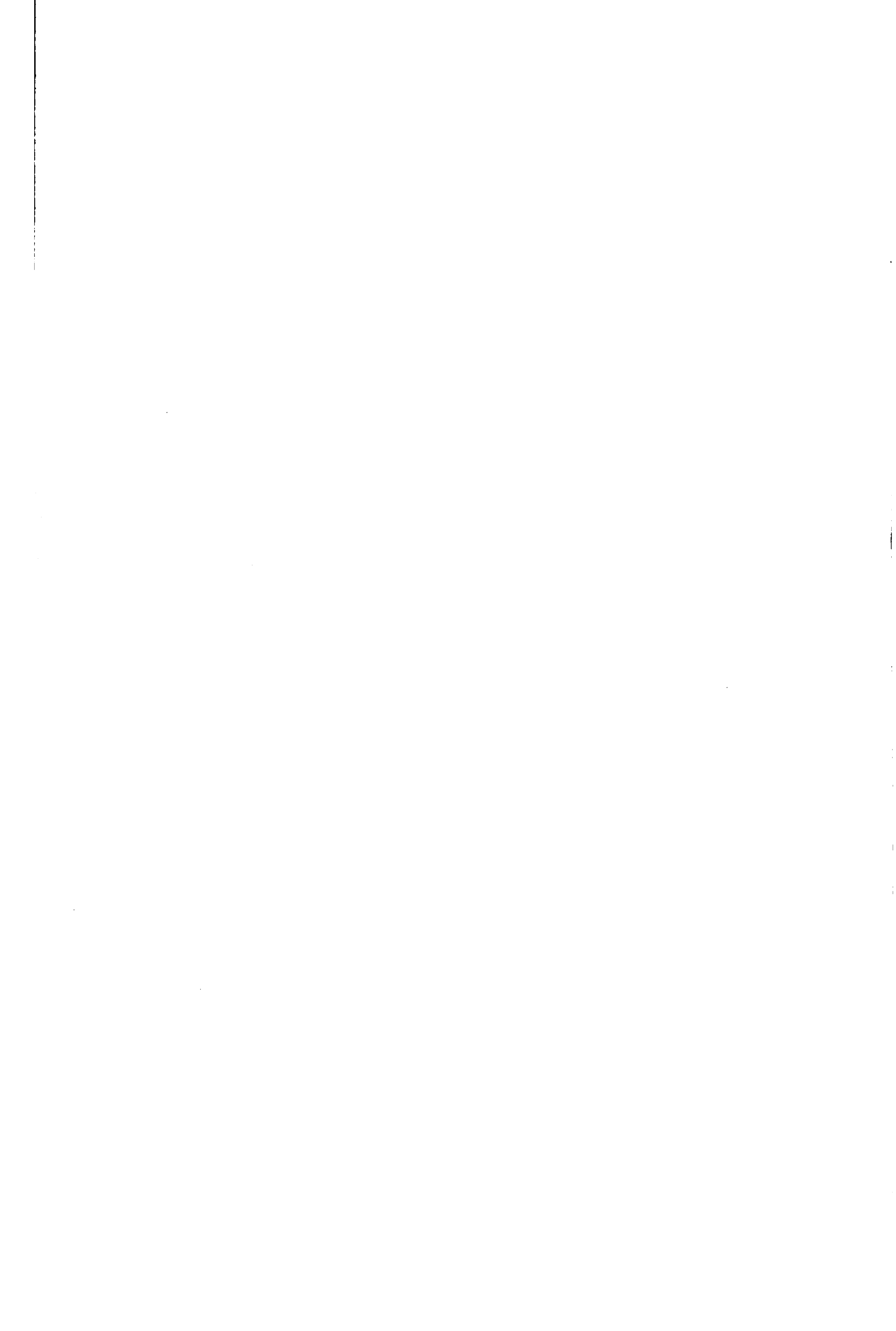



SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS









Zeitschrift

für

Chemotherapie

und verwandte Gebiete

Herausgegeben von

P. Ehrlich — F. Kraus — A. v. Wassermann

Redaktion: Fr. Keysser

I. Teil: Originale

Erster Band

Heft 1

Leipzig 1912

Verlag von Georg Thieme

INHALTSVERZEICHNIS.

Die **Zeitschrift für Chemotherapie und verwandte Gebiete,** Teil I: Originale, erscheint in zwanglosen Heften. Der Umfang eines Bandes (4 Hefte) wird ca. 40 Druckbogen betragen. — Preis desselben 20 Mark.

Der II. Teil: Referate erscheint in monatlichen Heften. Der Jahrgang umfaßt etwa 100 Bogen. — Preis 20 Mark halbjährlich.

Manuskriptsendungen sind an

Herrn **Dr. Keysser,**

Berlin-Wilmersdorf, Olivaerplatz 4

zu senden.

Zeitschrift

für

Chemotherapie

und verwandte Gebiete

Herausgegeben von

P. Ehrlich — F. Kraus — A. v. Wassermann

Redaktion: **Fr. Keysser**

I. Teil: Originale

Erster Band

Mit 23 Textabbildungen, 10 Kurven und 13 Tafeln.

Leipzig 1913

Verlag von Georg Thieme

Druck von C. Grumbach in Leipzig.

INHALTSVERZEICHNIS.

AUTORENVERZEICHNIS.

Über den jetzigen Stand der Salvarsantherapie mit besonderer Berücksichtigung der Nebenwirkungen und deren Vermeidung.

Von

P. Ehrlich.

Es ist ja allgemein bekannt, daß die Anwendungsform des Salvarsans im Laufe der Zeit wichtige Modifikationen erfahren hat, und daß es erst allmählich gelungen ist, die Technik herauszubilden. Es ist daher nach meiner Ansicht bedenklich, alle Resultate, die mit den so verschiedenen Behandlungsmethoden erzielt worden sind, gleichmäßig zu verwerten; man sollte vielmehr die Statistiken, je nach der Art und Intensität der Behandlung, trennen und eine strenge Scheidung vornehmen zwischen den Resultaten einer einmaligen kleinen Injektion und denjenigen einer intensiv durchgeführten systematischen Kur.

Was nun die Nebenwirkungen des Salvarsans betrifft, so hat sich herausgestellt, daß eine große Reihe von anscheinend toxischen Nebenerscheinungen nicht dem Salvarsan zur Last gelegt werden kann, sondern daß sie — wie Wechselmann zuerst betont hat — auf die Anwesenheit von Keimen im destillierten Wasser zurückzuführen sind (Wasserfehler). Auch bei tadelloser Technik und vollkommen einwandfreier Beschaffenheit des Wassers können zwar, wie sich herausgestellt hat, Reaktionen bei Syphilitikern auftreten, aber in solchen Fällen handelt es sich fast ausnahmslos um das Frühstadium der Lues, in welchem der ganze Organismus mit Spirochäten übersät ist. Offenbar kommt in diesen Fällen das Fieber dadurch zustande, daß durch das Salvarsan auf einmal eine große Menge Spirochäten abgetötet wird, die eine pyrogene Reaktion auslösen. Aber diese Reaktion unterscheidet sich von der durch den Wasserfehler bedingten dadurch, daß — wie Brückler[1]) zuerst betont hat — die Fieberreaktion erst 3—6 Stunden nach der Injektion beginnt und die Temperatur allmählich ansteigt, während

[1]) Dermatolog. Zeitschrift 1912, Nr. 2.

Frostgefühl und stärkeres Unbehagen gewöhnlich nicht auftritt und die ganzen Erscheinungen überhaupt nur unbedeutend sind. Außerdem ist das „Spirillenfieber“ meist auf die erste Salvarsaninjektion beschränkt. Im Gegensatz hierzu setzt die durch den Wasserfehler bedingte Temperatursteigerung schon in den ersten Stunden post injectionem, meist mit Schüttelfrost ein, (siehe Mc Intosh u. Fildes).

Natürlich wird bei vorhandenem Wasserfehler — und ich verweise hier auf die Arbeit von Yakimoff und Kol-Yakimoff[1]) — die Intensität der Erscheinungen abhängen von der Menge und Art der im Wasser enthaltenen Bakterien, weiterhin auch davon, ob eine vollkommene Sterilisation des Wassers erreicht wurde, oder ob noch lebende Keime zurückgeblieben sind. Klinisch können wir zwei Arten von Wasserfehler unterscheiden: einen sehr seltenen, den ich als „perniziösen“ Wasserfehler bezeichnen möchte und der dadurch charakterisiert ist, daß alle injizierten Personen lange und schwer erkranken. Solche Fälle sind beobachtet von Galewsky-Dresden, in Tula, in Triest, Klausenburg und Paris. Schwer erkrankte Patienten, insbesondere solche mit chronischem Meningismus oder schweren Veränderungen im Zentralnervensystem, können dieser Form des Wasserfehlers unterliegen. Glücklicherweise sind offenbar derartige auxotoxe Bakterien wohl nur ein sehr seltenes Vorkommnis.

Die zweite Art ist der „gewöhnliche“ Wasserfehler. Derselbe verläuft viel milder und macht nur vorübergehende Erscheinungen, offenbar weil die Wasserbakterien im allgemeinen keine Auxotoxie des Salvarsans auslösen. Immerhin kann es nicht gleichgültig sein, wenn dem Organismus eine so große Menge Bakterien, und sei es auch in abgetötetem Zustande, einverleibt wird; hat doch Müller-Graz[2]) nachgewiesen, daß in dem destillierten Wasser der Apotheken von 6 Millionen bis 1500 Millionen Keime in 1 ccm enthalten sein können. Ich werde Veranlassung nehmen, später bei Besprechung der Neurorezidive noch auf diesen Punkt näher zurückzukommen.

Eine weitere Nebenwirkung des Salvarsans sind die Thrombosen. Die lokalen Thrombosen, die an der Injektionsstelle auftreten, haben ihre Ursache fast ausschließlich in einer zu starken Alkalinität der Injektionsflüssigkeit, wie zuerst Darier & Cottenot[3])

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1911, Nr. 49; 1912, Nr. 3.

[2]) Münchener med. Wochenschr. 1912, Nr. 1.

[3]) Presse médicale 1911, No. 22.

hervorgehoben haben. Das Salvarsan als solches scheint dagegen auf gesunde Endothelien keine schädigende Wirkung auszuüben, wie wohl am besten aus der Tatsache hervorgeht, daß Dr. Fehde-Berlin bei einer ganzen Reihe von Patienten $6^0/_0$ ige alkalische Salvarsanlösungen intravenös ohne Nachteil injiziert hat. Diese Tatsache spricht nach meiner Ansicht in klarster Weise dafür, daß das Salvarsan als solches keine endothelschädigende Wirkung ausüben kann. In stark konzentrierter saurer Lösung ruft Salvarsan bei Mensch und Tier ausgedehnte Koagulation des Blutes hervor, die zu einer Thrombose der Lungenkapillaren führen kann. Aber derartige Vorkommnisse sind außerordentlich selten und werden wohl in Zukunft, wenn man darauf achtet und nur verdünnte, genügend alkalisierte Lösungen anwendet, ganz vermeidbar sein.

Weiterhin sind zuerst von Gaucher, Gougerot und Guggenheim[1]), später von Clingestein[2]) einzelne Fernthrombosen, die auf eine gefäßschädigende Wirkung des Salvarsans zurückgeführt werden, beschrieben worden. Es handelt sich hier um ausgedehnte Eiterungen, die sonderbarerweise in der Glutäalgegend aufgetreten sind und die von den Autoren auf eine unter dem Einfluß des Salvarsans erfolgte Thrombose zurückgeführt werden. Es ist aber bei dieser Erklärung ganz dunkel gelassen, in welcher Weise die Eiterung entstanden sein soll, da eine aseptische Thrombose eine solche Konsequenz bekanntermaßen nicht nach sich zieht; Eiterungen deuten immer auf die Anwesenheit von Bakterien oder deren Stoffwechselprodukten hin. Wenn wir nun hören, daß die beschriebenen Thrombosen nicht an verschiedenen Stellen des Organismus auftraten, sondern an den beschriebenen, ausschließlich für die Quecksilberinjektionsbehandlung gewählten Lieblingsstellen, so werden wir ungegezwungen dahin geführt anzunehmen, daß diese Glutäaleiterungen, die eine Mimikry einer Quecksilberinjektion darstellen, wohl mit vorhergegangenen Quecksilberinjektionen in Zusammenhang stehen könnten. Injiziert man einem derartigen Patienten mit chronischer Quecksilbernekrose ein stark bakterienhaltiges Wasser, so werden sich die toten und die lebenden Bakterien am Orte der Injektionsstelle lokalisieren und so Eiterungen hervorrufen können.

Eine weitere sehr wichtige Frage betrifft die sogenannten Neurorezidive, die ich hier anführe, weil sie im Anfang vielfach

---

[1]) Soc. française de Dermat. et de Syphiligraph. 2. IX. 1911.

[2]) Dermatolog. Zeitschrift 1911, Nr. 12.

als Ausdruck einer direkten Schädigung des Zentralnervensystems durch das Salvarsan aufgefaßt wurden. Ich habe gleich von Anfang an auf Grund der mir zugegangenen Berichte erklärt[1]):

„Die beschriebenen, meist in Knochenkanälen eingeschlossene Hirnnerven betreffenden Störungen sind nicht toxischer Natur, sondern syphilitische Manifestationen. Sie rühren von vereinzelten, bei der Sterilisation der Hauptmasse übrig gebliebenen Spirochäten her und kommen auch nach Hg-Behandlung vor. Die auffallenden klinischen Symptome verdanken sie nicht ihrer Ausdehnung, sondern ihrem anatomischen Sitz. Ihrem geringen Umfang bzw. Spirochätengehalt entsprechend veranlassen sie keine Wassermann-Reaktion und sind gewöhnlich durch erneute spezifische Behandlung prompt zu beseitigen. Es handelt sich also um keine konstitutionellen Rezidive, sondern um letzte Überbleibsel aus der vorhergegangenen Sterilisation."

Seit dieser Zeit ist eine große Reihe von Publikationen erfolgt, die sich mit diesem Gegenstand befassen, und es neigt sich doch jetzt die allgemeine Ansicht dahin, daß es sich bei diesen Affektionen um wirkliche Syphilisrezidive handelt und nicht um eine Arsenschädigung des Nervensystems durch das Salvarsan. Ich verweise in dieser Beziehung auf die sehr sorgfältigen Zusammenstellungen von Benario, aus denen ersichtlich, daß nach Quecksilber genau dieselben Affektionen gar nicht so selten vorkommen und daß diese Rezidive weiterhin durch antisyphilitische Kur — Quecksilber oder Salvarsan — der Heilung zugeführt werden können.

Die Achse, um die sich der Streit auch jetzt noch dreht, besteht in der Tatsache, daß diese Neurorezidive an bestimmten Stellen in einer außerordentlich unangenehmen, mit dem früheren Status gar nicht zu vergleichenden Häufigkeit sich eingestellt haben. Ich verweise in dieser Beziehung hauptsächlich auf die Statistik der Fingerschen Klinik, auf der etwa in 10% der behandelten Fälle diese unangenehmen Komplikationen beobachtet wurden, die insbesondere die Veranlassung zu der ablehnenden Haltung des bekannten Klinikers abgaben.

Ich habe von Anfang an betont, daß diese Resultate keine allgemeine Gültigkeit haben können, da an anderen Behandlungsstätten quoad Neurorezidive weit günstigere Resultate erzielt worden sind. Demgegenüber ist eingewendet worden, daß diese scheinbar

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1910, Nr. 51. Wiener med. Wochenschr. 1911, Nr. 1.

günstigen Resultate nur dadurch zustande gekommen seien, daß eben ein großer Teil der injizierten Patienten sich der Weiterbeobachtung entzogen hätte und daß daher die anscheinend geringe Zahl der Neurorezidive nur auf eine unzureichende Beobachtung zurückzuführen sei. Ich halte (vgl. Benario) diese Annahme für unrichtig und beziehe mich hier insbesondere auf die Resultate, die in verschiedenen Ländern in Militärhospitälern erzielt worden sind, wo es sich also um ein längere Zeit hindurch genau beobachtetes und kontrolliertes Material handelt.

In der österreichischen Armee, speziell auch im Wiener Garnisonlazarett sind z. B. 2300 Fälle vorwiegend mit einmaliger Injektion behandelt worden. Von diesen zeigten irgend welche Störungen nervöser Art 22 Fälle, eigentliche Neurorezidive sind dagegen nur 8 beobachtet worden, entsprechend 0,35 %. 7 von diesen Neurorezidiven sind durch antisyphilitische Kur zur Heilung gelangt, während bei einem Fall an einem Auge ein Defekt zurückgeblieben ist. Ganz entsprechend sind die Erfahrungen in der amerikanischen Armee. Nichols hat 1200 Fälle der amerikanischen Armee behandelt, von denen nur 3 ein Neurorezidiv gezeigt haben, und ähnlich liegen die Verhältnisse in England, wo Gibbard 392 Fälle behandelt und nur 1 Myelitis gesehen hat. In Deutschland endlich hat Gennerich bei 500 Militärfällen nur 2 Neurorezidive konstatieren können.

Wir sehen also, daß bei einem Gesamtmaterial von ungefähr 4400 Fällen 14 Neurorezidive vorgekommen sind, = 0,32 %. Und selbst wenn wir annehmen, daß durch Ausschalten aus dem Dienst ein gewisser Bruchteil der Patienten sich schließlich der Kontrolle entzogen hat, so ist dieser Teil doch mit 25 % der Gesamtbehandelten sicher nicht zu niedrig veranschlagt, so daß wir beim Militär in den verschiedenen Ländern auf eine Gesamtzahl von Neurorezidiven von etwa 0,42 % kommen, die sicher nicht höher, vielleicht gar kleiner ist als bei der früheren Quecksilberbehandlung.

Anderseits ist diese Feststellung von größter Wichtigkeit, weil sie auf die Ursache dieser Erscheinung doch vielleicht ein gewisses Licht zu werfen geeignet ist. Ich hatte früher angenommen, daß dieses Vorkommen von Neurorezidiven sich in einfachster Weise durch den Zustand einer fast vollkommenen Sterilisation, einer Sterilisatio fere absoluta erklären ließe, indem vereinzelt zurückgebliebene Keime sich an Ort und Stelle zu größeren Herden ausbilden, und daß dementsprechend das Neurorezidiv

ein Monorezidiv darstellt. Ich habe schon vor langer Zeit den Vergleich mit der Kulturplatte herangezogen: Sät man auf eine Platte Tausende von Keimen aus, während auf eine andere nur ein oder zwei Keime kommen, so wird man sehen, daß auf der ersteren massenhaft kleine Kolonien sich entwickeln, während auf der zweiten nur 1—2 Riesenkolonien wachsen. Es ist eben der Ausschluß jeder Konkurrenz, der bei der Sterilisatio fere completa das energische Wachstum der Einzelherde begünstigt. Dem entsprechen auch die Erscheinungen, die an den Organen, insbesondere an der Haut zur Beobachtung kommen; ich erwähne hier nur die von Thalmann beschriebene Erscheinung der Pseudoschanker nach intensiver Quecksilberbehandlung, der sich in der Salvarsanperiode eine große Anzahl analoger Beobachtungen angeschlossen haben.

Für die Deutung der Verhältnisse sind aber gerade die im österreichischen Militär gewonnenen Beobachtungen außerordentlich wichtig insofern, als ja von diesen Stellen fast ausschließlich mit einer einmaligen Injektion behandelt worden ist, die in einem Teil der Frühfälle zur Sterilisation sicher nicht ausreichend war. Es hätte also, wenn ausschließlich die ungenügende Sterilisation schuld an diesen Verhältnissen getragen hätte, entsprechend meiner Theorie die Zahl der Neurorezidive ebenfalls eine höhere sein müssen. Nun muß ich allerdings hervorheben, daß die Versuche, die zuerst im Wiener Garnisonlazarett von Prof. Doerr im Verein mit O.-Stabsarzt Frühauf vorgenommen wurden, sich von Anfang an durch die allerstrengste Asepsis ausgezeichnet haben, deren Erfolge sich zuerst darin geltend machten, daß die Injektionen im allgemeinen ohne die so häufig beobachteten Nebenerscheinungen, — Nekrosenbildung, Abszesse usw. — verlaufen sind. Und gerade diese Tatsache ist es, die mir ein helles Licht zu werfen scheint auf die Ursache dieser Nebenerscheinungen. Es ist immer von mancher Seite behauptet worden, daß bei der exzessiven Häufung der Neurorezidive ein gewisses Reizungsmoment unverkennbar sei; dieses Reizungsmoment kann ich aber nicht auf das Salvarsan, das — wie vermutet wurde — eine schädigende Wirkung auf Nerven oder Gefäßwände ausüben sollte, zurückführen, sondern es scheint mir, daß hier eine versteckte Wirkung von Bakterienendotoxinen vorliegen könne. Auf der Fingerschen Klinik z. B. sind ja nach den Beschreibungen von ihm und Mucha Nebenerscheinungen, die wir auf den Wasserfehler zurückführen, in relativ gehäuftem Maße vorgekommen. Re vera war es ja zur damaligen Zeit, wo diese Fehlerquelle noch ganz unbekannt war, immer ein

mehr oder minder glücklicher Zufall, wenn sich kein Wasserfehler eingeschlichen hat.

Wenn nun in die Blutbahn eine große Menge abgetöteter Bakterienleiber injiziert wird, so wird man sich fragen müssen, welches ihr Schicksal sein wird. Daß solche Elemente von den Phagozyten aufgenommen werden, wissen wir ja seit Metschnikoff; anderseits sind auch gereizte Endothelien befähigt, in besonderem Maße derartige korpuskuläre Elemente aufzunehmen. Wenn also unter dem Einfluß des Salvarsans spezifische Herde entzündlich reagieren, und wenn zu gleicher Zeit eine große Menge Bakterienleichen (ob immer Leichen?) in das Blut gelangen, so wird die Folge sein, daß diese Bakterien sich in den reagierenden Herden, speziell in deren Peripherie anhäufen und sich auf diese Weise ein Bakterieninfarkt der betreffenden Herde ausbildet. Daß nun eine massenhafte Anhäufung von Bakterienproteinen in entzündlichen Geweben keine ganz gleichgültige Sache darstellt, wird man ohne weiteres verstehen können. Dieselben werden nach allgemeinen Begriffen eine chronische Entzündung hervorrufen, und diese ist es, die nach meiner Ansicht das Reizmoment abgegeben hat. Sind nach einmaliger Salvarsaninjektion — und um diese handelt es sich bei Neurorezidiven fast stets — einzelne Keime im Innern erhalten geblieben, so können diese unter dem Einfluß der bakteriellen Entzündung in lebhaftere Wucherung geraten und so Anlaß zu Neurorezidiven geben[1]).

Wie dem aber auch sei, so ist die Ursache der Neuro- resp. Meningorezidive immer darin zu suchen, daß einzelne Spirochätenkeime sich der Sterilisation entzogen haben; und daß solches in der Tat der Fall ist, geht wohl am besten daraus hervor, daß alle die Stellen, die von Anfang an energisch und kombiniert behandelt haben, von dieser Plage der Neurorezidive stets verschont geblieben sind. Und jetzt, wo die Prinzipien einer ausreichenden Maximalbehandlung klargelegt sind und der Wasserfehler an vielen Stellen vermieden wird, erfolgt von allen Seiten die Bestätigung, daß die Neurorezidive zu einer gar nicht mehr in Betracht kommenden Quote reduziert sind.

[1]) Auf diese Weise dürfte es zu erklären sein, daß Finger so zahlreiche Reaktionen gar nicht spezifischer Art bei seinen intravenösen Salvarsaninjektionen beobachtet hat. Diese sind nach meiner Ansicht nicht auf das Salvarsan, sondern auf die gleichzeitig zugeführten Bakterien zu beziehen, die sich z. B. an allen entzündlichen Herden anhäufen und diese in Reaktion versetzen können. Auch die von ihm beobachteten Fälle von generalisierter Tuberkulose, die an anderen Stellen kaum vorgekommen sind, und sicher nicht in dem Maße, dürften in anologer Weise zu erklären sein.

Ich komme nun zu der so außerordentlich wichtigen Frage der Todesfälle, die nach Salvarsananwendung eingetreten sind und die gerade in Frankreich, besonders in Paris, nach allen Richtungen hin so eingehende Beleuchtung pro und contra — die zur Klärung der Sachlage so außerordentlich viel beigetragen hat — erfahren haben. Eine kritische Zusammenstellung dieser Fälle ist auf Veranlassung von Prof. Oltramare durch Dr. Dreyfus[1]) vorgenommen worden; dieselbe umfaßt etwa 150 Todesfälle. Oltramare[2]) äußert sich darüber wie folgt:

„Toutes ces défalcations faites, il nous reste toutefois plus d'une douzaine de morts attribuables à l'agent lui-même, et particulièrement à son action sur le rein ou à ses propriétés neurotropes, et qui sont les suivantes: cas d'Almkvist, Fischer, Kannengießer, Tucker, Luque, Morata, Hallopeau, Brocq, Oltramare, Caraven, de Beurmann, Ravaut, Peugnier, Duigou, Finger, (3 cas) et Queyrat. Une étude détaillée de chacun de ces cas nous permettra encore de reconnaître qu'il y a souvent lieu d'incriminer la dose ou la répétition trop fréquente des injections, et d'en tirer des conclusions plutôt rassurantes pour l'avenir."

Mir war die Aufhellung der Ursachen von Todesfällen stets besonders wichtig, und ganz besonders gilt dies von den nach Salvarsaninjektion eingetretenen Todesfällen von Lues im Frühstadium. Die Todesfälle nach Salvarsan zerfallen in zwei Gruppen:

1. die sehr seltenen Fälle, bei denen der Tod unter ausgedehntem Exanthem mit eventueller Beteiligung der Leber eintrat. Ich glaube, daß dieser Symptomenkomplex, der bei der intramuskulären Injektion überwiegend ist, auf einen Arsenizismus zurückzuführen ist, insofern als er in genau derselben Weise auch bei anderen Arsenikalien, insbesondere dem Arsenophenylglycin eintritt. Bei der großen chemischen Verschiedenheit, die zwischen Arsenophenylglycin und Salvarsan besteht, glaube ich, daß die Identität der Krankheitserscheinungen auf eine gemeinschaftliche Wurzel hindeutet. Ich vermute, daß es sich in diesen Fällen um die Abspaltung von arseniger Säure handeln könnte. Beim Arsenophenylglycin habe ich die Überzeugung gewonnen, daß besonders diese Form nicht selten im Zusammenhang steht mit einem Wasserfehler. Mit der Syphilis als solcher hat dagegen diese Erscheinung nichts

[1]) Etude critique des cas de mort attribués au salvarsan. Thèse No. 383 de Genève

[2]) Revue médicale de la Suisse romande 1912. No. 3.

zu tun, da sie bei ganz verschiedenartigen Krankheiten (Recurrens, Schlafkrankheit) auftreten kann; es besteht hier ein Gegensatz zu der allerwichtigsten Gruppe von Fällen, in denen ein akuter Tod unter Hirnerscheinungen: Meningismus, Encephalitis hämorrhagica, Hirnschwellung aufgetreten ist, da diese Erkrankungen, soweit ich übersehe, fast ausschließlich bei syphilitischen Patienten mit Prozessen im zentralen Nervensystem beobachtet worden sind.

Derartige Nervenerkrankungen lassen sich in zwei Gruppen scheiden, nämlich

a) solche, bei denen unmittelbar nach der ersten Injektion die pathologische Störung sich einstellt und

b) in die wichtigere Gruppe, bei welcher die erste Injektion anscheinend gut vertragen wurde, während die zweite Injektion das bekannte schwere Symptom bald hervorrief. Insbesondere ist es die zweite Kategorie, die einer Erklärung viele Schwierigkeiten entgegenstellt; bei der ersten Gruppe handelt es sich nach unseren Ermittlungen meist um technische Fehler, die verschiedener Art sein können:

I. Es existiert eine Reihe von Fällen, von denen ich schon einige Beispiele angeführt, in denen ein perniziöser Wasserfehler vorgekommen ist (wegen der Kasuistik siehe Abhandlungen über Salvarsan, Bd. II., Schlußbemerkungen)[1]).

II. Eine weitere Gruppe bilden Fälle, die außer ihrer Syphilis anscheinend keine Erkrankung zeigten, bei denen aber durch die Sektion schwere Organerkrankungen festgestellt wurden, wie schwere chronische Nephritis und Hepatitis, Addison, Lymphosarkom.

III. Eine dritte Gruppe von Fällen betrifft Patienten, bei denen schon während des Lebens schwere, zum Teil irreparable Veränderungen des Herzens erkannt worden sind. In diesen Fällen, die ich von Anfang an als ganz besonders gefährdet hingestellt hatte, handelt es sich gewöhnlich darum, daß zu große Dosen injiziert worden sind. Wenn man sich bei jedem derartigen Fall die Frage

---

[1]) In dieser Beziehung möchte ich nur auf einen Fall hinweisen, der von Gaucher (Bulletin de l'Acad. de Médicine No. 6, 1912) zitiert wurde und der den von Dr. Jahoub im bulgarischen Hospital zu Konstantinopel beobachteten Frühfall betrifft. Herr Dr. Bujes, Chefarzt der Abteilung, schrieb mir unter dem 30. April 1912 folgendes: „Ich glaube, daß doch nur das angewandte destillierte Wasser schuldtragend ist, wie ich nach mühevoller Untersuchung feststellen konnte. Ich erlaube mir dies zur gefl. Kenntnis zu bringen, da seither 73 intravenöse Injektionen mit steigenden Dosen bis 0,8 ohne geringste Erscheinungen ausgeführt wurden."

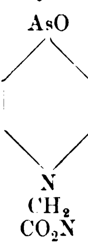
vorlegen würde: „Würdest du in einem solchen Falle Chloroform in Anwendung ziehen?" und wenn man bei dem geringsten Dubium sich auf die wiederholte Anwendung kleiner Salvarsandosen — wie dies von vielen Seiten erfolgreich durchgeführt worden ist, beschränken würde, würden diese Todesfälle eliminiert sein.

2. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei manifesten Erkrankungen des zentralen Nervensystems, bei denen die beschriebenen Todesfälle fast ausschließlich auf Anwendung zu großer Dosen, häufig in Verbindung mit dem Wasserfehler, zurückzuführen sind. Schon der erste Salvarsanerprober, Alt, hatte auf die Notwendigkeit aufmerksam gemacht, in derartigen Fällen kleine Dosen anzuwenden. Auch hatte Alt hervorgehoben, daß unter dem Einfluß des Salvarsans Reaktionen der erkrankten Teile stattfinden, die eine Exazerbation der Krankheitssymptome auslösen könnte. Nach meiner Ansicht handelt es sich hier um eine Art Herxheimerscher Reaktion, die um so intensiver ausfallen wird, je größer die angewandte Salvarsandosis ist und je spirillenreicher die im Zentralnervensystem oder dessen Häuten befindlichen Herde sind. Es handelt sich also um ein Analogon der Herxheimerschen Reaktion auf die Haut.

Für die Richtigkeit dieser Auffassung spricht auch die Tatsache, daß alle Umstände, die eine meningeale Reaktion verstärken können, besonders schädigend wirken. Von der einfachen Lumbalpunktion wissen wir, daß es notwendig ist, die punktierten Patienten einige Tage im Bett zu halten. Wenn man einen solchen Patienten aber nach der Punktion einer langen, ermüdenden Eisenbahnfahrt aussetzen würde, dürfte es nicht Wunder nehmen, wenn derselbe an schwerstem Meningismus erkrankte. Und dementsprechend wird es auch nicht überraschen, daß bei einem ungarischen Staatsanwalt, über den Marschalko berichtet hat, der Exitus letalis eingetreten ist, nachdem derselbe unmittelbar nach einer Salvarsaninjektion, die wahrscheinlich mit einem Wasserfehler verbunden war, sich den Anstrengungen einer 500 km weiten Eisenbahnreise aussetzte. Ganz ähnlich verhält es sich, wenn sich unmittelbar nach der Injektion Alkoholexzesse, große körperliche Überanstrengungen (Tanzen, Reiten) angeschlossen haben.

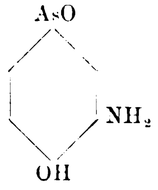
Einer andern mehr versteckt liegenden Fehlerquelle bin ich kürzlich auf die Spur gekommen. Das erste von mir erprobte Arsenikale, das Arsenophenylglycin ergab bei den hier in Frankfurt zuerst behandelten Fällen von 67 Syphilispatienten 10 % Nervenerscheinungen, die in einem Fall sogar zum Exitus geführt hatten.

Bei der späteren Erprobung aber ist der Schaden — wie aus dem Bericht von Neisser hervorging — nicht mehr aufgetreten. Es ist nun neuerlich gelungen, die Ursachen dieser Differenzen aufzufinden: in der allerersten Periode der Erprobung war nämlich nicht bekannt, daß das Arsenophenylglycin ein außerordentlich leicht oxydabler Körper ist. Er wurde daher in einer offenen Flasche abgegeben und so war die Möglichkeit gegeben, daß sich ein Teil des Präparats zu dem p-Aminophenylarsenoxyd von der Konstitution



oxydierte, das 10—15 mal so giftig ist als das Ausgangsmaterial. Bei der weiteren Erprobung war aber diese Oxydation dadurch ausgeschlossen, daß das Präparat nur noch in Vakuumröhrchen abgegeben wurde. Es bestand also der Unterschied ausschließlich darin, daß in der einen Periode das Oxydationsprodukt nicht vollkommen, in der andern aber nach Möglichkeit eliminiert worden war. Auch beim Arsenophenylglycin war es aufgefallen, daß zwischen der Injektion und dem Auftreten der toxischen Störung ein Intervall von 3 Tagen und mehr bestehen konnte, so daß es schien, als ob hier eine gewisse Inkubation vorliege. Das toxische Oxyd hat eine außerordentliche Verwandtschaft zu den Geweben und scheint von denselben fest verankert zu werden und diese Verankerung scheint erst allmählich zu schweren Erscheinungen zu führen.

Das entsprechende Oxydationsprodukt des Salvarsans, das p-Oxymetamidophenylarsenoxyd



hat ähnliche toxische Eigenschaften wie das oben erwähnte Oxydationsprodukt des Arsenophenylglycins. Nun sind die Salvarsanampullen ja mit der allergrößten Sorgfalt vor Oxydation geschützt, aber es ist nicht ausgeschlossen, daß die Lösungen, zumal die al-

kalischen Lösungen, wenn sie längere Zeit mit der Luft in Berührung kommen oder gar geschüttelt werden (wie das z. B. beim Transport nicht vollgefüllter Flaschen, wenn die Lösung in einer Apotheke gemacht und zum Arzt gesandt wird, unvermeidbar ist) sich zu diesem giftigen Produkt umsetzen. Aus diesem Grunde hatte ich auch stets in den Gebrauchsanweisungen angegeben, die Lösungen unmittelbar vor der Anwendung herzustellen, und ich glaube, daß die Vernachlässigung dieser Vorsichtsmaßregel in vielen Fällen Anlaß zu schweren Schäden gegeben hat.

Wie dem auch sei, so glaube ich, daß die letzte Ursache aller dieser unter Hirnerscheinungen eingetretenen Todesfälle, wie schon gesagt, in syphilitischen Veränderungen, die sich im Zentralnervensystem und seinen Häuten befinden, zu suchen ist, und hierfür spricht schon der Umstand, daß diese Art von Todesfällen fast ausschließlich auf das Gebiet der Syphilis beschränkt ist.

Ich muß es daher ablehnen, diese Unfälle auf eine etwaige Neurotropie des Salvarsans, die im Anfang der Erprobung eine so große Rolle gespielt hat, zurückzuführen, und ich befinde mich hier in Übereinstimmung mit einer Reihe bewährter Fachleute, insbesondere auch mit Ravaut. — Ebenso wenig, wie es jemand einfallen würde, schwere Nervenstörungen, die bei Meningitis tuberculosa nach der Injektion von Tuberkulin eintreten, auf eine Neurotropie des Tuberkulins zu beziehen, sondern diese ausschließlich auf die spezifische Reaktion der Tuberkeln zurückführen wird, ebensowenig ist das bei den ganz analogen Verhältnissen der Salvarsanreaktion erlaubt. Das Salvarsan ist also weder neurotrop, noch — wie ich schon früher erwähnt habe — vasotrop, sondern es ist ausschließlich spirillotrop, es wird von den Spirochäten verankert. Diese Verankerung bedingt die Vernichtung und Auflösung der Spirochäten, die dann sekundär eine entzündliche Reaktion in den syphilitischen Affektionen hervorruft, die im Wesen genau dem Verhalten der Tuberkelherde entspricht. Daß bei diesem Vorgang in den reagierenden Spirochätenherden größere Mengen Salvarsan oder des Oxydationsproduktes zurückgehalten werden, ist möglich und sogar wahrscheinlich (Syphilomotropie).

Es handelt sich bei den Todesfällen dieser Art also wesentlich um eine Abart der Herxheimerschen Reaktion, die ich als eine „réaction renforcée“ bezeichnen möchte. Für diese unerwünschte Verstärkung der Reaktion kommt eine Reihe von Momenten in Betracht, die sich häufig miteinander kombinieren. Ich erwähne

hier nur 1. den Wasserfehler und die dadurch bedingte Infarzierung der Herde mit Bakterienleichen; 2. traumatische Einflüsse (lange Reisen), Überanstrengung (Tanzen, Reiten), Exzesse; 3. konstitutionelle Ursachen: verringerte Ausscheidung des Salvarsans bei Nephritis, Erschöpfungszustände des Körpers; Status nervosus, Bestehen anderer Infektionen; 4. fehlerhafte Präparation der Lösungen, Bildung von Arsenoxyden; 5. die ganz wichtige Rolle des Gehaltes der Herde an Spirillen: je spirillenreicher dieselben sind, desto intensiver wird die primäre Reaktion ausfallen. 6. als weiteres wichtiges Moment nach allgemeinen Erfahrungen die Höhe der angewandten Salvarsandosis. Je größer dieselbe ist, desto plötzlicher wird die Abtötung der Spirochäten und hiermit verbundene Reizwirkung sein; desto größere Mengen werden in den reagierenden Herden und deren Umgebung verankert werden. Besonders wichtig ist dieser Umstand bei den überstarken Reaktionen, die sich an die zweite Injektion anschließen.

Aus allen diesen Umständen heraus ist eine große Reihe von Autoren gleichzeitig und unabhängig zu einem Modus procedendi gelangt, der, wie ich hoffe, ausreichen wird, um diese schweren Zufälle auf ein nicht mehr in Betracht kommendes Minimum zu reduzieren. Es handelt sich hier wesentlich darum, bei allen Zuständen, bei denen im zentralen Nervensystem und dessen Umgebung syphilitische Prozesse anzunehmen sind, einen zu starken therapeutischen Initialiktus zu vermeiden. Nun wissen wir aus den Beobachtungen von Ravaut, daß bei der Syphilis schon in einem sehr frühen Stadium die Meningen in einem sehr hohen Prozentsatz betroffen sind. Man wird daher bei der Syphilis secundaria recens, also besonders im roseolären Stadium, immer mit der Möglichkeit, daß ausgedehnte syphilitische Prozesse vorhanden sind, rechnen müssen und unter allen Umständen in den Fällen, wo auch klinische Anzeichen, wie Kopfschmerzen, Störung des Schlafes, Rhachialgie und rheumatische Schmerzen, motorische Asthenie, allgemeines Krankheitsgefühl, Veränderungen im psychischen Verhalten, Schwindel, Übelkeit, Erbrechen, Augenflimmern, Ohrensausen, Anomalien im Gebiet des Trigeminus, Facialis, Olfactorius usw., oder andere nervöse Symptome: Sprachstörungen, Krämpfe, Paresen, epileptoide Zustände, Herzklopfen (Wechselmann) auf eine stärkere Beteiligung des Gehirns hinweisen, in den Dosen besonders vorsichtig sein müssen. Man wird in allen derartigen Fällen die erste Dose nie 0,6 erreichen lassen, sondern durchschnittlich 0,3

geben, aber in den Fällen, die auch klinisch irgendwie verdächtig sind, dieselben auf 0,1—0,15 herabsetzen müssen. Auch bei der zweiten Injektion ist Vorsicht in den Dosen geboten, zumal wenn nach der ersten Injektion Erscheinungen auftreten, die von Bizard, Sicard und Gutmann als „Neurotropisme d'alarme" bezeichnet worden sind. Viele und bewährte Autoren erreichen den Zweck, die Initialreaktion abzuschwächen dadurch, daß sie bei allen derartigen Zuständen zunächst mit Kalomel vorarbeiten und dann erst Salvarsaninjektionen — am besten immer unter vorsichtiger Dosierung der ersten Gaben — nachfolgen lassen.

Wie dem auch sei, so glaube ich aber, daß es unter allen Umständen notwendig ist, die Fortführung der Behandlung energisch und mit Steigerung der Dosen bis zur vollen Höhe durchzuführen. Hier bewährt sich die therapeutische Taktik, die im Immunitätsgebiet sich als richtig erwiesen hat: klein anfangen, groß enden. Selbstverständlich wird dieser Modus die Behandlungsdauer um 1—2 Wochen verlängern, aber er verringert in entsprechender Weise auch die Gefahren, die gerade in diesem Stadium immer zu fürchten sind.

Ich denke, daß diese Vorsichtsmaßregeln ausreichen werden, um die bedrohlichen Nervenerscheinungen auf ein Minimum herabzudrücken. Sehr zu bedauern ist es aber, daß in allen derartigen bisher publizierten Fällen eine wirklich eingreifende Therapie nicht stattgefunden hat. Mit seltenen Ausnahmen begnügte man sich, die Unfälle zu konstatieren und den Decursus morbi abzuwarten, ohne auch nur den Versuch zu machen, das unheilvolle Ende durch eine energische Therapie abzuwenden und Heilung herbeizuführen. Da wir nun jetzt wissen, daß es sich im wesentlichen bei diesen Zuständen um eine Meningitis, ein Hirnödem oder Encephalitis hämorrhagica handelt, Zustände, bei denen es sich um Zeichen eines Hirndrucks handelt, ist es absolut geboten, eine dekomprimierende Therapie zu versuchen. Man wird daher in jedem derartigen Fall unverzüglich eine Lumbalpunktion ausführen müssen, und in etwa 4 mir gemeldeten Fällen ist ein solcher Eingriff von ausgezeichnetem therapeutischem Erfolg gewesen. Sollte aber bei der Punktion sich ergeben, daß keine meningitischen Erscheinungen im Vordergrund stehen, also nur geringe Mengen Liquor ablaufen und auch eine Besserung des Zustandes nicht eintritt, so ist es notwendig, unmittelbar an diesen Eingriff eine Trepanation anzuschließen, auf deren Bedeutung (décompression cérébrale) Lucas-Championnière noch vor wenig Jahren aufmerksam gemacht und für deren

Anwendung er so warm eingetreten ist.[1]) Und wenn man bedenkt, daß neuerdings auch bei der Eklampsie, die mit diesen Zuständen viele Analogien darbietet, die Trepanation nach den Beobachtungen von Zangemeister lebensrettend wirkt, so glaube ich die Hoffnung aussprechen zu dürfen, daß diese Maßnahmen ausreichen werden, bei Eintritt dieser unangenehmen Komplikation den unglücklichen Ausgang zu verhindern. Aber die Hauptsache ist, daß der Eingriff unmittelbar nach dem ersten Erscheinen der Symptome vorgenommen wird, da jede längere Verzögerung Alterationen des Nervensystems, die irreparabel sind, insbesondere Blutungen, setzen kann und anderseits die Möglichkeit der so gefährlichen Schluckpneumonien begünstigt wird. Eine Allgemeinbehandlung, insbesondere subkutane Kochsalzinfusionen, Klystiere, innerliche Darreichung von Magnesia usta und Injektionen von Coffeinum natrium citricum (Gennerich) wird man nebenher zweckmäßig anwenden.

Man wird daher bei der Kategorie von Patienten, bei denen event. sich Hirnerscheinungen bemerkbar machen könnten, die Behandlung am besten in einem Krankenhause durchführen, wenigstens für die ersten zwei Injektionen, und das Wartepersonal instruieren, schon bei den allerersten Symptomen ärztliche Hilfe zu requirieren, damit das Nötige unmittelbar veranlaßt wird.

Glücklicherweise gelten diese Besorgnisse, wie gesagt, nur für die sekundäre Frühsyphilis. Bei der Behandlung des Frühschankers, sofern derselbe nicht älter als 14 Tage ist, sofern keine ausgesprochenen Drüsenschwellungen bestehen, die Wassermannreaktion noch nicht positiv ist, kann man, ganz dem Vorschlage Leredde's entsprechend, ohne Furcht mit der vollen Dose von 0,6 beginnen, da hier meningeale Reizung kaum zu fürchten ist. Die Lokalbehandlung (Exzision, Ausbrennen) ist nach Möglichkeit energisch durchzuführen.

Zum Schluß möchte ich nochmals darauf zurückgreifen, daß von Gaucher immer und immer wieder betont worden ist, das Salvarsan stelle kein Heilmittel der Syphilis, sondern nur ein „Cicatrisans" dar. Bei dieser Behauptung ist aber die Kardinalfrage nach der Wirkung des Mittels: ob dasselbe die Spirochäten energisch abtötet, absolut außer acht gelassen. Wenn wir dagegen nun bedenken, daß das Salvarsan alle die pathogenen Spirillosen, die wir bei Mensch und Tier kennen: Recurrens, Frambösie,

[1]) La Presse Médicale No. 83, 15. Oct. 1910, pag. 775.

Mundspirochäten, Hühnerspirillen in der sinnfälligsten Weise beeinflußt und die Erkrankung zur Heilung bringt, so werden wir daraus folgern müssen, daß das Salvarsan die ganze Gruppe der Spirochäten abtötet. Denn wie soll man es anders verstehen, wenn wenige Stunden nach der Salvarsaninjektion die Recurrensspirochäten des Menschen, die Hühnerspirillen, vollkommen vernichtet werden und eine kritische Entfieberung eintritt!? Hier handelt es sich um Abtötung, nicht um Vernarbung. Und wenn man sieht — es ist das von vielen Seiten beobachtet worden —, daß nach einer ausreichenden Salvarsandosis die Spirochäten zur Vernichtung kommen, so spricht das entschieden für eine spirillotrope Funktion des Arzneimittels, und diese Tatsache wird wohl nur von den allerwenigsten jetzt noch bestritten. Wenn Gaucher auf die „außerordentlich große“ Zahl der Rezidive hinweist, die den Nachweis erbringen sollen, daß das Salvarsan keine Abtötung der Spirochäten verursache, so erklärt sich sein Skeptizismus aus der Tatsache, daß seine Resultate sich ganz vorwiegend auf das Studium von Fällen beschränken, die mit ungenügenden Dosen oder in technisch fehlerhafter Weise behandelt worden sind. Und wenn wir sehen, daß bei der Erkrankung, die der Syphilis am nächsten steht, der Framboesie, gewöhnlich mit einer einzigen Injektion, höchstens zwei, weit über 90% der Fälle der Heilung zugeführt werden können, wenn wir sehen, daß derartige Spezialkrankenhäuser — wie in Surinam — im Laufe von wenigen Wochen geleert waren und geschlossen werden konnten, so ist hier der sichere Beweis der Therapia magna sterilisans erbracht, und zwar erbracht bei einer Krankheit, die, wie gesagt, von allen Erkrankungen der Syphilis am nächsten steht und deren Bekämpfung bisher vollkommen unmöglich gewesen ist.

Wenn gegenüber solchen Tatsachen ungenügende Resultate, die ja bei der Einführung einer neuen Therapie, bei der erst alles ausprobiert werden muß: Dosis, beste Applikationsform, Kontraindikationen, unvermeidbar sind, immer und immer wieder vorgeführt und ins Licht gesetzt, die guten Resultate aber, die von zahlreichen Autoren berichtet werden, absichtlich verschwiegen und entstellt werden, so ist das im Interesse der Patienten außerordentlich bedauernswert; denn der größte Schaden, den man einem Kranken überhaupt zufügen kann, besteht doch darin, daß man ihm die Chance einer wirklichen Heilung, die möglich ist, entzieht. Daß die bisherige Behandlungsweise mit Quecksilber quoad definitiver

Heilwirkung durchaus nicht das Optimum darstellt, ist zu bekannt, als daß ich es zu betonen brauchte; ich verweise in dieser Hinsicht nur auf die von verschiedenen Autoren publizierten Erfahrungen der Lebensversicherungs-Gesellschaften, auf die relative Häufigkeit der Paralyse und der Tabes, und ich verweise weiter darauf, daß in der amerikanischen Armee, nach den Feststellungen von Nichols[1]), im Jahre 1909 unter 1839 behandelten Syphilispatienten 122 = 6,6 % als dienstuntauglich entlassen werden mußten, trotzdem die Quecksilberbehandlung eine sehr energische war.

Es ist nach meiner Ansicht überhaupt nicht wissenschaftlich, einen sich ausschließenden Gegensatz zwischen Salvarsan und Quecksilber aufzustellen. Seit Beginn meiner chemotherapeutischen Studien, lange vor Salvarsan, habe ich die Kombinationstherapie immer in den Vordergrund gesetzt und als Prinzip aufgestellt, daß man zwei verschiedenartige Heilstoffe, wenn sie eine Erkrankung günstig beeinflussen, kombinieren müsse. Da nun sicher ist, daß das Quecksilber ein mächtiges Antisyphilitikum ist, und da durch die neueren Versuche von Lannoy und Levaditi[2]) quecksilberfeste Stämme einwandfrei erwiesen sind, habe ich bei der Syphilis den Doppelangriff stets befürwortet. Es tritt ja auch bei einem Kampf nicht nur eine Truppenart, sondern verschiedene Truppengattungen in Aktion, wenn auch re vera eine von ihnen die wichtigste und ausschlaggebende ist. So bin ich auch der Überzeugung, daß von den beiden Antisyphilitica das Salvarsan die weitaus stärkere Waffe darstellt.

Was die Behandlungsresultate betrifft, so ist es ja selbstverständlich, daß je nach dem Stadium der Erkrankung die therapeutische Beeinflussung und die Sterilisation verschiedene Chancen des Erfolges hat. Am wichtigsten scheint es, daß die Abortivbehandlung des Schankers und eventuell des roseolären Stadiums durch das Salvarsan so große Fortschritte gemacht hat. Es ist sogar aus zahlreichen Publikationen ersichtlich, daß in einem nicht unbeträchtlichen Teil der Fälle eine einzige intramuskuläre und sauber applizierte Salvarsaninjektion Heilung erzielt hat. Dieser günstige Effekt kann beträchtlich erhöht werden, wenn die Behandlung sich nicht auf eine einzige Injektion beschränkt, sondern in einer Injektionsserie mit einer nicht zu kleinen Gesamtmenge (2,0 bis 3.0 g) durchgeführt wird. Von der Mehrzahl der Salvarsan-

[1]) The Military Surgeon 1912, Washington.

[2]) Société de Biologie 20, H. 27, Avril.

autoren wird eine intensive Kombinationsbehandlung: Salvarsan + Quecksilber bevorzugt. Der Prozentsatz der Abortivkuren hängt ab von der Intensität der Behandlung, und je stärker diese ist, desto mehr wird sich der Prozentsatz der guten Resultate dem Absoluten nähern.

Will man also eine lückenlose Reihe erhalten, so wird es notwendig sein, die Behandlung in einer den Durchschnitt übersteigenden Intensität durchzuführen. Tatsache ist, daß die verschiedensten Behandlungsstellen, von denen ich nur Arning, Bettmann, Ehrmann, Fabry, Favento, Frühauf, Gennerich, Géronne und Gutmann, Hecht, Hesse, Hoffmann, Klingmüller, Knaur, Kopp, Löwenberg, Neißer, Riehl, Rissom, Scholtz, Voß, Waelsch, Werther, v. Zeißl und von ausländischen Emery, Leredde und Kuenemann, Milian, Queyrat, Tissier, Bayet, Dind, Mc Donagh, Fordyce, Gibbard, Harrison and Cane, Mc Intosh and Fildes, Joltrain nennen will, in einem hohen Prozentsatz Fälle beobachtet haben, die 6—20 Monate und noch länger nach der Behandlung des Schankers ohne intermediäre Kuren frei von jeder syphilitischen Manifestation geblieben sind, bei denen die Wassermannreaktion andauernd negativ geblieben ist und bei denen selbst die von Gennerich und Milian unabhängig voneinander gefundene provokatorische Salvarsaninjektion keine positive Schwankung der Blutreaktion hervorgerufen hat. Wir können annehmen, daß ein großer Teil dieser Fälle durch eine Kur — nicht eine Injektion — tatsächlich der Heilung zugeführt worden ist. Und wenn hiergegen eingewandt wird, daß das nicht der Fall sei und daß alle diese Patienten ungeheilt seien, so entbehrt diese Behauptung jedes wissenschaftlichen Beweises. Denn selbst wenn noch einer oder der andere dieser Fälle nachträglich neue Symptome bieten sollte, so handelt es sich hier sicher um Ausnahmen, für deren Generalisation gar keine Ursache vorhanden ist. Jedes weitere Jahr wird ja in dieser Beziehung weitere Sicherheit bringen, und ich sehe dieser Klärung mit vollem Vertrauen entgegen. Dafür, daß in vielen solcher Fälle wirkliche Heilung eingetreten sein dürfte, sprechen auch die zahlreichen veröffentlichten Fälle von Reinfektion. Und selbst wenn wir zugeben müßten, daß ein Teil derselben nicht einer Reinfektion, sondern dem sekundären Pseudoschanker entsprechen könnte, so bleibt noch ein sehr großer Teil von Fällen zurück, die von den hervorragendsten Syphilidologen in der kritischsten Weise geprüft und als frische Infektionen erwiesen worden sind.

Je länger die Krankheit besteht, desto größer sind natürlich die zu überwindenden Schwierigkeiten. Besonders scheinen es die Fälle von Lues latens und Metalues zu sein, die der Therapie den allergrößten Widerstand entgegensetzen und wiederholte maximale Kuren notwendig machen. Daß aber auch unter diesen Umständen mit einer wirklich rationellen und konsequent fortgesetzten Salvarsantherapie vieles erreicht werden kann, beweisen die schönen Beobachtungenvon Leredde und Milian über die so weitgehende und andauernde Besserung, fast Heilung, bei Tabes dorsalis.

Wenn ich zum Schluß noch einmal resümiere, so darf ich die Überzeugung aussprechen, daß die toxischen Gefahren des Salvarsans in hohem Maße übertrieben worden sind, und ich darf hier die Worte anführen, die Wechselmann[1]) in der Einleitung seines schönen Werkes sagt:

„Das Salvarsan ist in den bisher gebrauchten Dosen ungiftig und kann wahrscheinlich in viel größeren Dosen als bisher ohne Schaden angewendet werden.

Ich habe weit über 12000 Salvarsaninjektionen gemacht und habe es aufgegeben, dieselben noch zu zählen; ich habe nie einen Todesfall, welcher irgendwie in Verbindung mit der Salvarsanapplikation gesetzt werden könnte, auch keinerlei Komplikationen bemerkenswerter Art erlebt. Speziell hat sich herausgestellt, daß die schweren Reaktionserscheinungen, welche man nach der intravenösen Injektion beobachtet hatte, ganz und gar keine Vergiftungserscheinungen darstellen. Denn wir haben mit der von mir verbesserten Technik mehrere Tausend Injektionen gemacht, ohne daß es auch nur im geringsten zu irgendwelcher schweren Reaktion gekommen wäre. Wir machen an manchen Tagen über 50 Injektionen und wären gar nicht imstande, die Behandlung durchzuführen, wenn wir nach der Injektion überhaupt mit nennenswertem Unwohlsein der Patienten zu kämpfen hätten. Tatsächlich verläuft der Eingriff so harmlos, daß die Patienten nicht das geringste merken und nicht das geringste Übelsein haben."

Und genau derselben Ansicht sind zahlreiche andere Stellen, die die größte Zahl von Injektionen durchgeführt haben.

Die Schädlichkeiten, die dem Salvarsan anzuhaften schienen, sind nicht auf eine besondere toxische Quote des Salvarsans zu be-

---

[1]) Die Behandlung der Syphilis mit Dioxydiamidoarsenobenzol. II. Bd., Oskar Coblentz, Berlin, S. 172.

ziehen, sondern sie haben ihren Grund teils in einer falschen Applikation (Injektion von Bakterienendotoxinen), teils in der Art der Erkrankung:

1. in der Existenz von Spirochätenherden, in die das Mittel nur allmählich und schwer eindringen kann (Neurorezidive);

2. im Auftreten lokaler Reaktionen, die dadurch zustande kommen, daß unter dem Einfluß des stark keimtötenden Mittels die Endotoxine eine lokale Reaktion auslösen, wie wir sie zuerst von Koch beim Tuberkulin kennen gelernt haben. Diese Reaktionen haben sich im Nervensystem besonders unangenehm bemerkbar gemacht, aber jedes Mittel, welches eine maximale keimabtötende Wirkung besitzt, wird mit diesem Umstand zu kämpfen haben.

Re vera sind die Unfälle, die durch das Salvarsan bedingt sein können, fast vorwiegend auf die Anwendung zu großer Dosen bei Affektionen — insbesondere spirochätenreichen Affektionen — des Zentralnervensystems zurückzuführen, und meistens noch verschärft durch Kombination mit einem Wasserfehler. Aber ich habe die feste Überzeugung, daß durch die Aufdeckung der Ursachen auch diese Zufälle vermeidbar sein werden.

Auf jeden Fall sind im verflossenen Jahre nach dieser Richtung hin schon große Fortschritte gemacht und die Richtlinien, nach denen die Therapie sich zu entwickeln hat, festgelegt worden. Allerorten sind viele und tüchtige Hände am Werk gewesen, um die Prinzipien einer möglichst sicheren und möglichst ungefährlichen Behandlungsweise aufzustellen, und ich hoffe, daß weitere wichtige Fortschritte nachfolgen werden.

Aus dem Königlichen Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ in Berlin.
(Direktor: Geh. Obermedizinalrat Prof. Dr. Gaffky;
Leiter des Tropenlaboratoriums: Prof. Dr. Schilling.)

Die Wirkung organischer Quecksilberverbindungen bei Spirochäteninfektionen.

(I. Mitteilung.)

Von

Prof. Dr. **Cl. Schilling,** Dr. **M. von Krogh,** Dr. **W. Schrauth,**
Dr. **W. Schoeller.**

Seit der Entdeckung des Salvarsans durch Ehrlich macht sich in der Biologie das gesteigerte Bestreben bemerkbar, durch planmäßige Versuche neue Heilstoffe gegen die verschiedenen Infektionskrankheiten aufzufinden.

Von altersher besitzen wir in dem Quecksilber ein stark wirkendes Mittel gegen die Syphilis; seine Anwendung per injectionem ist aber deshalb noch nicht voll befriedigend, weil wir noch kein Präparat besitzen, das bei geringster Giftigkeit und ohne Reizwirkung auf die Gewebe eine maximale Wirkung auf den Krankheitsprozeß ausübt. Deshalb schien es uns wünschenswert zu versuchen, ob wir nach dem Beispiele Ehrlichs durch systematische Untersuchung einer Reihe neuer, organischer Quecksilberpräparate mittels eines geeigneten Testobjektes eine wesentliche Verbesserung der Quecksilbertherapie erreichen könnten. Eine derartige Prüfung schien uns aussichtsreich, da uns durch die umfassenden chemischen Untersuchungen zweier von uns eine große Anzahl organischer Quecksilberpräparate zur Verfügung stand, die zudem auch schon pharmakologisch und bakteriologisch durchgeprüft waren.

Vorversuche. Als Testobjekt haben wir zunächst die Spirochätenkrankheit der Hühner, die von Marchoux und Salimbeni[1]) zuerst beschriebene Hühnerspirillose, benutzt und haben

[1]) Annales Pasteur 1903.

auch in mehreren Fällen mit unseren Präparaten eine Heilung selbst schwerer Infektionen mit geringen Dosen erzielen können.

Aber die Hühnerspirillose erwies sich bald insofern als ein wenig zuverlässiger Indikator, als sie durch Präparate sehr verschiedener Konstitution beeinflußt wurde, also feinere Unterschiede im chemischen Aufbau unserer Präparate nicht zum Ausdruck brachte. Außerdem kommt es gelegentlich vor, daß auch unbehandelte Kontrolltiere die Infektion überstehen, so daß eine Heilung nicht ohne weiteres dem ev. injizierten Präparat zugeschrieben werden kann. Wir haben deshalb ein schwerer zu beeinflussendes Testobjekt gesucht in der Erwartung, daß wir dadurch deutlichere Fingerzeige bekommen würden, die uns die einzuschlagende Richtung zeigen könnten, und zwar haben wir uns ebenso wie Ehrlich der Recurrensinfektion der Mäuse bedient.

Bei Impfung mit größerer Menge spirochätenhaltigen Blutes intraperitoneal tritt, wenn das Virus eine hinreichende Virulenz besitzt, der Tod je nach der Impfung nach 2—5 Tagen ausnahmslos ein. Die Tiere sind am ersten Tage nach der Impfung noch recht munter, aber in ihrem Blute lassen sich die Spirochäten schon in ziemlicher Menge nachweisen. Am 2. Tage sind sie zahlreicher, und die Tiere erscheinen nicht so munter wie vorher. Am 3. Tage ist das Gesicht geschwollen, und die Augen sind verklebt. Zur selben Zeit setzt auch ein mässiger Durchfall ein, so daß der After der Tiere durch die in der Analöffnung hängenbleibenden Reste vielfach verklebt wird. Spirochäten sind jetzt reichlich im Blute vorhanden, gewöhnlich 50—100 pro Gesichtsfeld. (Zeiß Obj. DD, Okular 12, mit der Dunkelfeldbeleuchtung beobachtet.) Am 4. Tage der Infektion sind die Tiere schwer krank; das Fell ist struppig, mit Kot beschmutzt. Die Schwellung im Gesicht, das Verkleben der Augen und der Durchfall haben noch zugenommen, die Tiere sind matt und fühlen sich kalt an. Der Harn der Tiere ist spärlich und dunkelgelb. Die Spirochäten, jetzt in sehr großer Menge vorhanden (100 und mehr pro Gesichtsfeld), sind vielfach zu großen Knäueln agglomeriert. Die meisten Tiere sterben am 4. oder 5., seltener erst am 6. oder 7. Tage.

Wenn die Infektion etwas weniger virulent gewesen ist, erholen sich einige von den Mäusen am 4., 5. oder 6. Tage überraschend schnell. Sämtliche Krankheitssymptome sind über Nacht verschwunden, und die Spirochäten sind bei der mikroskopischen

Untersuchung des Blutes nur vereinzelt oder gar nicht mehr zu finden. Es handelt sich also hier um einen typisch kritischen Verlauf des ersten Anfalles.

Nach einigen Tagen treten jedoch die erwähnten Krankheitssymptome wieder auf, aber meistens nicht so schwer wie bei dem ersten Anfall. Die Tiere können so 2—3 Rezidive bekommen, bis sie endlich sterben oder in der Mehrzahl dieser Fälle vollständig genesen. Auffallend ist, daß die Krankheit nur, wenn sie ganz akut zum Tode führt, bei den verschiedenen Tieren gleichmäßig verläuft. Je schwächer virulent das Material oder je kleiner die Dosis, desto ungleichmäßiger ist das Krankheitsbild und der Ausgang.

Diese Unregelmäßigkeiten verursachten natürlich sehr große Schwierigkeiten bei der Beurteilung der Wirkung der verschiedenen Heilmittel. Wir waren deshalb immer bestrebt, eine Infektion zu erzielen, die gerade alle Mäuse in dem betreffenden Versuche zu töten vermochte.

Nun trat aber der Fall ein, daß nach einer Anzahl von Passagen der Stamm sehr stark an Virulenz nachließ, die Kontrollen spontan in immer größerer Anzahl genasen und schließlich die Infektion überhaupt nicht mehr anging.

Die Ursache erklärt sich aus den folgenden Tatsachen: Wenn eine passende Anzahl Recurrensspirochäten einer Maus intraperitoneal einverleibt wird, so kann man diese schon nach einer halben Stunde fast in jedem Fall in dem Blut nachweisen. Nun konnten wir beobachten, daß die Spirochäten in dem neuen Organismus erst allmählich ihre volle Virulenz erreichten, indem wir eine Anzahl von Mäusen infizierten und davon je einen Teil am 1., 2. und 3. Tage der Infektion töteten, um mit dem Blut neue Mäuse zu infizieren. Das Blut wurde immer so weit verdünnt, daß in 10 Gesichtsfeldern 6 Spirochäten zu finden waren; diese immer die gleiche Anzahl Spirochäten enthaltenden Verdünnungen wurden in Mengen von je 1, 0.5, 0.25 und 0.125 ccm neuen Tieren intraperitoneal injiziert.

Bei den Tieren, die mit Spirochäten vom ersten Tage der Infektion geimpft waren, stieg zwar die Anzahl der Spirochäten wie gewöhnlich rapide an, aber sie erreichte nicht die Höhe, wie dies bei der Infektion mit derselben Anzahl Spirochäten vom zweiten Tage der Infektion der Fall war, wo die Spirochäten sehr stark im Blute der Tiere wucherten. Auch lebten die Tiere, die mit

Spirochäten vom ersten Tage geimpft waren, durchschnittlich länger als die von zweitägiger Infektion geimpften (3,1 Tage gegen 1,8). Die Spirochäten vom dritten Tage der Infektion haben wiederum an Virulenz eingebüßt. Die Mäuse, die mit denselben infiziert sind, zeigen eine deutliche Verlangsamung des Ansteigens der Anzahl der Spirochäten im Gesichtsfeld, und ihre Lebensdauer ist noch etwas mehr verlängert als die der mit Virus vom ersten Tage der Infektion geimpften Mäuse. (3,8 Tage.)

Die Virulenz der Rekurrensspirochäten ist also von dem Stadium der Infektion abhängig, auf dem sich die Tiere befinden. Anfänglich ist die Virulenz eine schwächere, um allmählich anzusteigen. Die stärkste Virulenz scheint dann aufzutreten, wenn etwa 50—100 Spirochäten in jedem Gesichtsfeld zu sehen sind. Wenn sich die Spirochäten sehr stark vermehrt haben, nimmt die Virulenz wieder ab. Wenn die Mäuse an der Infektion zugrunde gegangen sind, ist auch die Virulenz der Spirochäten in dem aus dem toten Tiere gewonnenen Blute fast erloschen. Es hängt dies offenbar damit zusammen, daß im Verlauf der Recurrensinfektion Antikörper auftreten, die natürlich gegen Ende des akuten Anfalles bereits in beträchtlichen Mengen vorhanden sein können. Spritzt man Blut, das eine Suspension von Spirochäten im antikörperhaltigen Plasma darstellt, ein, so erzielt man dadurch nur eine schwache Infektion, unter Umständen (3. Tag) bleibt sie sogar ganz aus.

Um zur selben Zeit den Originalstamm bei vollkonstanter Virulenz, und gleichzeitig schwächer virulente Spirochäten zur Verfügung zu haben, sind wir so verfahren, daß der Originalstamm jeden Tag übergeimpft wurde, und zwar mit einer relativ großen Blutmenge, indem wir das Gesamtblut einer unserer Passagemäuse auf 4 normale Mäuse verteilten. Diese Mäuse zeigten sich schon nach 24 Stunden stark infiziert, mit etwa 50—100 Spirochäten pro Gesichtsfeld, und so erhielt sich die Infektion von Tag zu Tag in dem Passagestamm. Mit ihm gelang es, die Kontrolltiere ausnahmslos in 4—5 Tagen zu töten.

Für unsere Versuchszwecke haben wir nun je nach Bedarf von dieser „Starkpassage“ aus Mäuse mit ganz geringen Mengen infizierten Blutes geimpft. Diese Mäuse überlebten meistens den dritten Tag, und von diesen lange lebenden Tieren wurde so spät als möglich in der Infektion Blut entnommen, so verdünnt, daß etwa eine

Spirochäte im Gesichtsfeld zu sehen war. (Zeiß DD. Comp. Oc. 12.) Diese Verdünnung wurde mit einer Mischung von Blut normaler Mäuse in 2% Na. citric.-Lösung in Bouillon vorgenommen, weil die Spirochäten durch zu starke Verdünnung des Blutes mit Kochsalzlösung oder Bouillon leiden[1]). Hiervon wurden den Versuchsmäusen je 0,2 ccm injiziert. Die so infizierten Mäuse starben in den meisten Fällen am vierten oder fünften Tage der Infektion; zuweilen kam es aber vor, daß in einer solchen Versuchsserie eine oder zwei von den Kontrollen mit dem Leben davonkamen.

Es war nun für uns von Interesse, welchen Anteil eventuell Toxine, die in den Leibern abgetöteter Spirochäten enthalten sein könnten, an der Entstehung jener Antikörper haben möchten. Aus unseren diesbezüglichen Untersuchungen führen wir als Beispiele den folgenden Versuch an: 5 stark infizierte Mäuse wurden in 2% Zitratbouillon entblutet; gleichzeitig wurde aus einer Anzahl normaler Mäuse dieselbe Blutmenge (40 Tropfen) in derselben Menge Zitratbouillon (2,5 ccm) aufgefangen. Um die Blutkörperchen zu entfernen, wurde das Blut zunächst schwach zentrifugiert, dann das Serum 1½ Stunden auf 45° im Wasserbad erwärmt und das erwärmte Spirochätenserum schließlich scharf zentrifugiert, bis sich ein **Bodensatz** von toten Spirochäten abgesetzt hatte. Dieser Bodensatz wurde nach Abgießen der überstehenden Serum-Zitratbouillon bis zu dem ursprünglichen Volumen mit Zitratbouillon wieder aufgeschwemmt. Es waren also 3 verschiedene Flüssigkeiten, die auf die Tiere verimpft wurden, und zwar 1. erwärmtes Normalserum, 2. erwärmtes Spirochätenserum, aus dem der allergrößte Teil der Spirochäten durch Zentrifugieren entfernt war, und 3. der aus den Spirochäten bestehende aufgeschwemmte Bodensatz. Jede Flüssigkeit wurde je 4 Tieren in Mengen von 1,0; 0,5; 0,25 und 0,125 ccm intraperitoneal eingeimpft.

Sämtliche Tiere sind gestorben; ein erheblicher Unterschied zwischen den mit Spirochätenserum und den mit Normalserum behandelten Tieren hat sich aber nicht erkennen lassen, auch hat die gegebene Dosis keinen deutlichen Einfluß auf die Lebensdauer der Tiere gehabt. Sie haben bei Spirochätenserum 3—7 Tage gelebt, durchschnittlich 5,0 Tage, bei Normalserum 4—5, durchschnittlich 4,5 Tage. **Schon das erwärmte Mäuseserum an und für sich ist also für Mäuse giftig.**

---

[1]) s. Ehrlich-Hata: Chemotherapie der Spirillosen. Berlin 1910.

Die mit Spirochätenrückstand geimpften Tiere haben dagegen eine deutliche Verkürzung der Lebensdauer entsprechend der Menge des eingespritzten Materials gezeigt. Die beiden Tiere, die 1,0 bez. 0,5 ccm bekommen haben, starben nach 3 Tagen; das dritte Tier mit 0,25 ccm lebte 4 Tage, und das mit 0,125 ccm lebte gar 7 Tage. Der Durchschnitt war 4,1 Tage, also etwas weniger als bei den anderen.

Dieser Versuch scheint dafür zu sprechen, daß auch giftige Stoffe in den Spirochätenleibern enthalten sind.

Wir stehen also hier in einem Gegensatz zu Mannteufel[1]), der die toxischen Eigenschaften der Spirochäten und die Immunitätsverhältnisse bei der Recurrensinfektion eingehend untersucht hat. Er hat Ratten und Mäuse mit spirochätenhaltigem Blute geimpft, in welchem die Protozoen durch Erwärmen auf 50—60° oder durch 10—14 tägigen Aufenthalt im Brutschrank oder auch durch Trocknen und Wiederauflösen getötet waren. Seine Tiere sind meistens ohne Krankheitssymptome durchgekommen. Einige sind zwar nach der Einverleibung von Spirochätenmaterial gestorben; da dies aber auch mit einigen Tieren, die mit in derselben Weise behandeltem nicht spirochätenhaltigem Blut geimpft waren, der Fall gewesen ist, hat er auf die Existenz spezifischer, in dem Spirochätenleib enthaltener Giftstoffe nicht schließen können. Auch hat er gegen die Existenz solcher Gifte die Tatsache angeführt, daß aktiv immunisierte Ratten und Mäuse in seinen Versuchen große Dosen virulenter Spirochäten anstandslos vertragen haben.

Auch diesen zweiten Satz von Mannteufel haben wir in unseren Versuchen nicht bestätigen können. Vielmehr ist es sehr oft vorgekommen, daß die von uns immunisierten, bezw. geheilten Tiere kurz nach einer Reinfektion gestorben sind, ohne daß wir Spirochäten im Blute derselben haben nachweisen können. Dies läßt sich am einfachsten dadurch erklären, daß durch das Zugrundegehen der Spirochäten im Tierkörper Giftstoffe frei werden, die die Tiere schädigen oder töten können.

Die Erklärung für die fehlende Übereinstimmung zwischen unseren Versuchen und denen Mannteufels scheint uns darin zu liegen, daß unsere Spirochäten eine hochgradige Virulenz angenommen hatten, während die Spirochäten, mit denen Mannteufel arbeitete, nur selten die Tiere töteten.

---

[1]) Arbeiten aus dem Kais. Ges.-Amt. Bd. 27.

Die bisher geschilderten Versuchsserien waren notwendig, um bei den nunmehr folgenden therapeutischen Versuchen einigermaßen gleichmäßige und vergleichbare Resultate zu erzielen.

Für das Studium der zu untersuchenden Präparate gingen wir von einer Einteilung aus, welche zwei von uns in Vorschlag gebracht haben[1]), indem sie, je nach Art der Quecksilberverbindung im Molekül neben den Quecksilbersalzen, deren Lösungen also das Metall in ionisiertem Zustande enthalten, pseudokomplexe, halb- und vollkomplexe Quecksilberverbindungen unterscheiden. In den Lösungen der pseudokomplexen Verbindungen sind die Metallionen, falls überhaupt noch vorhanden, nur von so geringer Konzentration, daß die sonst mit Alkalien erfolgende Oxydfällung der Quecksilbersalze ausbleibt, eine Sulfidfällung mit Schwefelwasserstoff oder Ammoniumsulfid aber noch möglich ist. In den halbkomplexen Verbindungen, in denen das Quecksilber mit einer Valenz an Kohlenstoff gebunden ist, während die andere durch einen leicht dissoziierbaren, meist anorganischen Rest besetzt ist, ist dagegen die Fähigkeit der Ionisation nicht mehr vorhanden, und dementsprechend reagieren solche Verbindungen in der Kälte weder mit Natronlauge noch mit Schwefelwasserstoff bezw. Ammoniumsulfid; wohl aber kann man sie zerlegen, wenn man ihre wässerigen Lösungen mit den letztgenannten Reagentien kocht. Die vollkomplexen Verbindungen endlich, in denen beide Valenzen des Quecksilbers an Kohlenstoffreste gebunden sind, geben auch bei längerem Kochen mit Schwefelalkalien keine Quecksilbersulfidfällung, indem in ihnen das Metall als chemisch abgesättigt gelten muß.

Von einer Prüfung der Quecksilbersalze haben wir allerdings Abstand genommen, da sich diese im Organismus ja doch sofort in pseudokomplexe Metalleiweißverbindungen, praktisch also nicht ionisierte Substanzen umwandeln[2]). Aus dieser Klasse der Pseudokomplexe aber haben wir z. B. das Quecksilberalbuminat, -succinimid und -oxycyanid geprüft, ohne indessen irgend eine Beeinflussung der Recurrensinfektion konstatieren zu können, wie die folgende Tabelle erläutern mag.

---

[1]) Siehe Med. Klinik 1912.

[2]) Fr. Müller, W. Schoeller, W. Schrauth, Biochem. Zeitschrift 33. 385 (1911).

Tabelle I.

Quecksilberalbuminat, -succin-imid und -oxcyyanid.
Mäuse infiziert 15./2., behandelt 16./2.

Maus Nr.	Gewicht g	Präparat	Dosis pr. 10 g	Spiroch. 16./2. vor d. Beh.	17./2.	18./2.	19./2.
1	17	Hg. Albumi-	0,1	6	40	†	
2	20	nat	0,2	20	50	†	
3	18	"	0,3	20	50	†	
4	13	"	0,4	12	50	†	
5	11	Hg. Succin-	0,025	20	50	†	
6	21	imid	0,050	10	40	†	
7	22	"	0,075	9	30	50	†
8	22	"	0,100	8	50	†	
9	19	Oxy.-Hg-	0,01	17	40	†	
10	16	cyanid	0,02	12	40	†	
11	15	"	0,04	10	40	†	
12	17	"	0,08	10	40	†	
13	—	Kontrolle	—	20	40	†	
14	—	"	—	12	50	†	
15	—	"	—	20	50	†	
16	—	"	—	15	50	†	

Aus der Klasse der halbkomplexen Verbindungen haben wir sodann einige nach ihren Eigenschaften recht verschiedene Vertreter der aliphatischen Reihe ausgewählt und zunächst das von E. Fischer dargestellte, wasserlösliche β-Oxyquecksilberpropionsaure Natrium[1]) untersucht, welches das Quecksilber ziemlich fest im Kohlenstoffskelett der Fettsäure gebunden enthält. Sodann prüften wir eine Verbindung von chemisch verwandtem Bau, aber durchaus anderen physikalisch-chemischen Eigenschaften, nämlich das in Wasser unlösliche, aber hochlipoidlösliche Chlorquecksilberäthyl (Kahlbaum). Ferner ein von uns dargestelltes, ebenfalls hochlipoidlösliches, merkuriertes Olivenöl, in welchem die Quecksilber-Kohlenstoffbindung aber bereits bedeutend gelockert ist und schließlich ein nach der gleichen chemischen Methode[2]) gewonnenes, aber wieder wasserlösliches Derivat der α-Oxyquecksilberpropionsäure, das β-Phenyl-β-Methyläther-α-oxyquecksilberpropionsaure Natrium, welches das Quecksilber ebenfalls locker gebunden enthält und den Übergang zu den von uns ausführlicher geprüften aromatischen Quecksilberverbindungen bildet. Auch von diesen vier Stoffen war keinerlei Wirkung auf das Virus zu erkennen. Der Krankheitsverlauf entspricht auch hier vollständig dem Bilde der Tabelle I.

[1]) Bericht d. deutsch. chem. Ges. Bd. 40, 386 (1907).
[2]) Bericht d. deutsch. chem. Ges. Bd. 43, S. 695 (1910).

Erste Anfänge einer Wirkung sahen wir jedoch, als wir in unseren Untersuchungen auf die aromatischen Quecksilberverbindungen übergingen, deren Sonderstellung zwei von uns bereits im Jahre 1909 hervorgehoben haben[1]). Wie in den früheren Arbeiten[2]) gingen wir auch hier wieder von dem Natriumsalz der Oxyquecksilberbenzoesäure aus, haben aber dann auch unsere Versuche nach Möglichkeit auf wasserlösliche Präparate anderer Gruppen ausgedehnt, vor allem auf die Natriumsalze der Oxyquecksilberphenole und auf gewisse wasserlösliche Verbindungen der merkurierten Amine. Alle diese Präparate sind in wässeriger Lösung hinreichend haltbar, reagieren überwiegend auf Lackmus alkalisch und koagulieren Eiweiß nicht. Ihr Quecksilbergehalt bewegt sich fast ausnahmslos zwischen 40% und 60%, die letalen Dosen betragen 5 bis 15 mg Hg. pro kg Maus.

Die Zahl der in den genannten Präparatenklassen möglichen chemischen Variationen ist natürlich eine außerordentlich große, so daß wir uns hier auf die Besprechung der wichtigsten Resultate beschränken müssen. Um den Einfluß der verschiedenen Substituenten kennen zu lernen, haben wir vornehmlich Halogen- (Cl, Br, J), Alkyl- (CH_3, C_2H_5, C_3H_7, C_4H_9 usw.), Oxalkyl- (OCH_3 usw.), Amido- (NH_2), Nitroderivate (NO_2), ferner in diesen Substituenten abermals substituierte Verbindungen wie beispielsweise das Oxyquecksilberphenylglycinnatrium der Formel $HOHg \cdot C_6H_4 \cdot NHCH_2COONa$[3]) u. a., sodann mehrfach in gleicher oder verschiedener Weise substituierte Präparate wie z. B. das Oxyquecksilber-p-acetylamidophenolnatrium der Formel $HOHg \cdot C_6H_3(NHOC \cdot CH_3) \cdot ONa$ und schließlich auch mehrfach merkurierte Verbindungen wie z. B. das Dioxyquecksilber-o-cresolnatrium der Formel $(HOHg)_2H_6H_2(CH_3)OH$ untersucht, eine effektive Wirkung aber haben wir bisher nur bei fünf Präparaten gesehen, die in unseren Protokollen die Bezeichnung A. 1, C. 25, S. 48, S. 62 und T. 10 tragen.

Die vier letztgenannten Stoffe sind Verbindungen aus der Klasse

---

[1]) W. Schoeller u. W. Schrauth, Zur Synthese des Asurol. Therapeut. Monatshefte Bd. 23, S. 631 (1909).

[2]) F. Müller, W. Schoeller, W. Schrauth, Zur Pharmakologie organischer Quecksilberverbindungen, Biochem. Ztschr. Bd. 33, S. 381 (1911) W. Schrauth und W. Schoeller, Über die Desinfektionskraft komplexer organischer Quecksilberverbindungen, Zeitschrift f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. 66, S. 497 (1910), — Bd. 70, S. 24 (1911).

[3]) Bericht d. deutsch. chem. Ges. Bd. 44, S. 1304 (1911).

der ein- oder mehrfach substituierten Oxyquecksilberphenole. Da wir hier aber vorläufig nicht über den Zusammenhang zwischen chemischer Konstitution und chemotherapeutischer Wirkung, sondern lediglich über die Wirkung selbst berichten wollen, so behalten wir uns eine genauere Beschreibung ihrer chemischen Zusammensetzung für später vor. Zur Kennzeichnung dieser Wirkung lassen wir nunmehr einige Protokolle folgen, die den Einfluß der genannten Präparate auf die Recurrensinfektion zu dem normalen Krankheitsverlauf in Vergleich stellen.

Tabelle II.

A. 1. Infektion 9./2., Behandlung nach 24 St. Intraperitoneal.

Maus Nr.	Tier Gewicht	Dosis in mg Hg pr. 10 g Maus	Zahl der Spir. vor d. Behandl.	11./2.	12./2.	13. 2.	14./2.	15./2.	16./2.	17. 2.	18. 2.	19. 2.	21./2.	22./2.	23. 2.	24. 2.
1	16	0,02	0	0	0,3	0	0,1	0,1	0	0	0,1	†				
2	16	0,04	0	1	40	50	†									
3	17	0,06	0,5	†												
4	15	0,08	0,1	10	50	†										
5	12	0,10	0,2	11	40	40	0	0	0,1	5	0	20	20	0	0	†
6	12	0,12	0,3	13	40	†										
7	11	0,14	0,1	20	20	0	†									
8	12	0,16	1,0	†												
9	—	Ktr.	0,3	20	40	50	†									
10	—	—	0,5	20	50	100	†									
11	—	—	0,2	20	50	†										
12	—	—	0,3	20	50	†										

Die Zahl der Spirochäten pro Gesichtsfeld wurde berechnet, indem in mindestens 20 Gesichtsfeldern die Zahl zusammen genommen und dann durch 20 dividiert wurde; bei größeren Mengen wurden die Zahlen geschätzt.

Tabelle III.

C. 25. Infektion 1./3. Behandlung intraperitoneal nach 24 Stunden.

Nr.	Dosis in mg Hg pro 10 g Maus	Zahl den Spir. vor d. Bch.	3. 3.	4./3.	5. 3.
1	0,025	0	5	7	†
2	0,050	0,5	2	4	†
3	0,075	2,0	5	12	†
4	0,100	0	†		
5	Ktr.	0	20	†	
6	,,	0,5	20	50	†
7	,,	1,4	20	50	†
8	,,	0,5	20	50	†

C. 25. 27./11. Behandlung intravenös, nach 2 Std.

Nr.	Dosis s. o.	28./11.	29./11.	30./11.	1./12.	2./12.	4./12.	5./12.	6./12.	7./12.	8./12.
1	0,03		0	0	0	0	0	0,2	—	100	†
2	0,03		0	0	0,05	7	†				
3	0,03		0	0,4	30	20	0,1	†			
4	Ktr.		0,1	20	100	†					
5	,,		0,3	12	100	†					
6	,,		0,2	15	100	†					
7	,,		0,1	10	100	†					

Tabelle IV.

S. 48. 0.05 mg Hg pr. 10 g.

Infektion 1./9. Behandlung intravenös, nach 2 Stunden.

Maus Nr.		2./9.	4./9.	5./9.	6./9.	7./9.	8./9.	9./9.	11./9.	13./9.	15./9.	16./9.	17./9.	
1		0,3	30	0	0	0	1	10	0	2	0	0	0	lebt 1./10.
2		0,1	†											
3		0	30	0	0	0	0,2	4	2	0,1	5	0	0	lebt 1./10.
4		0	50	30	15	0	0	2	0	0	†			
5	Kontr.	0,7	50	∞	†									
6	—	0,9	50	∞	∞	†								
7	—	1,0	50	∞	0,1	0,2	10	3	0,4	2	0	0	0	lebt 1./10.
8	—	1,0	50	∞	†									

Infektion 4./9., behandelt nach 22 Stunden intravenös.

Maus Nr.		Spir. vor d. Beh.	6./9.	7./9.	8./9.	9./9.	11./9.	13./9.	14./9.	16./9.	18./9.	19./9.	20./9.	21./9.	
1		0,7	15	30	0	0	0,1	0	0	1,5	0	0	0	0	lebt 10./10.
2		0,3	7	20	0	0	0,1	1	0	0	3	0	0	0	lebt 10./10.
3		1,0	5	50	†										
4		0,3	10	25	0	0	2,4	0	0,3	2,2	0	0	0	0	lebt 10./10.
5	Kontr.	1	20	50	†										
6	--	1	20	50	∞	†									
7	--	0,2	20	50	∞	†									
8	—	0,2	20	50	†										

Tabelle V.

S. 62. Infektion am 20./11 mit dem Blut einer Maus vom 3. Krankheitstag, schwache Infektion.

	Dosis	21./11.	22./11.	23./11.	24./11.	25./11.	26./11.	27./11.	28./11.	29./11.	30./11.	1./12.	2./12.	4./12.	5./12.
1. 0,10	mg Hg	0,15	—	20	40	0	2	1	0	0	—	—	0	†	
2. 0,07	pro 10	0	—	25	0,5	1	0,3	0,6	7	0	0	0,3	0	0	0
3. 0,05	g Maus	0,05	—	100	∞	†									
4. 0,03	„	0	—	100	∞	†									
5. Ktr.		0,3	—	100	∞	†									
6. „		0,3	—	100	∞	†									
7. „		†													
8. „		0,5	—	70	100	0	0	0,05	4	0	0	0,4	0	0	0

Infektion am 27./11., schwach.

		28./11.	29./11.	30./11.	1./12.	2./12.	4./12.	5./12.	6./12.	7./12.	8./12.
1. 0,10	mg Hg pro	0	0,15	3	40	20	0	0,15	1	0,7	0
2. 0,10	10 g Maus	0	0,5	15	50	20	†				
3. 0,10	„	0	0,7	15	50	†					
4. 0,10	„	0	0,5	40	100	∞	†				
5. Ktr.		0,1	20	100	∞	†					
6. „		0,2	12	100	0	0	0,4	0	0	0,1	0,05
7. „		0,3	15	100	∞	∞	†				
8. „		0,1	10	100	0	0	1	0	0	0	0,05

Tabelle VI.

T. 10. Infiziert 5./12., behandelt nach 2 Stunden intravenös.

Maus Nr.	Dosis in mg Hg pr. 10 g	6./12.	7./12.	8./12.	9./12.	11./12.	12./12.	13./12.	14./12.	
1	0,03	0,15	15	100	100	†				
2	do.	0,15	20	100	∞	0,05	0	0	0	lebt
3	do.	0,5	15	100	∞	†				
4—8 Kontr.	0	0,1	5	100	∞	†				

Tabelle VII.

T. 10. Infiziert 28./9., behandelt nach 3 Stunden intravenös.

Maus Nr.	Dosis Hg. pr. 10 g	2. 9.	29. 9.	30. 9.	2./10.	3. 10.	4. 10.	
1	0,03	0,5	20	∞	†			
2	do.	2,5	30	∞	†			
3	do.	3,0	50	∞	†			
4	do.	4,0	50	50	0	0,1	0	lebt
5—10 Kontr.	—	2,0	50	∞	†			

Tabelle VIII.

T. 10. Infektion 6./3. Beh. intraperitoneal 7./3.

Maus Nr.	Gew.	Dosis pro 10 g in mg Hg	Spir. 7./3. vor Beh.	8. 3.	9. 3.	10./3.	11. 3.	12. 3.	13. 3.	14. 3.	15. 3.	16. 3.
1	23	0,025	2,5	20	40	0	0	0,05	10	0,4	†	
2	22	0,035	2.3	20	50	†						
3	25	0,050	2,5	15	50	4	1,2	0,05	4	20	40	†
4	20	0,060	0,8	75	15	†						
5	22	0,080	2,0	70	†							
6	20	0,090	3,0	20	†							
7	18	0,100	0,1	22	20	†						
8	—	Kontr.	4.0	30	†							
9	—	—	7,0	50	†							
10	—	—	0	25	50	∞	∞	†				
11	—	—	5	50	∞	†						

Aus diesen Protokollen kann man entnehmen, daß eine Einwirkung auf die Parasiten nicht zu verkennen ist, indem sich der Verlauf der Infektion so gestaltet, wie er bei einer Erkrankung an schwach virulentem Virus zu sein pflegt (vgl. Tabelle 2 mit Tabelle 5). Niemals trat eine so prompte Heilung ein, wie es z. B. beim Salvarsan der Fall ist, in der Mehrzahl der Fälle wurde die Infektion nur abgeschwächt. Eine Ausnahme bildet lediglich das Präparat S. 48, mit dem der größte Teil der Recurrensmäuse geheilt werden konnte, aber auch bei diesem Präparat haben wir mehrfach Mißerfolge beobachtet. Das Präparat C. 25 besitzt mehr als die anderen die Fähigkeit, die Infektion anzuhalten, schließlich werden aber auch die mit ihm behandelten Mäuse krank und sterben meist mit Spirillen im Blute. Im großen und ganzen hatte aber

weder die injizierte Dosis, noch die Art der Einverleibung, noch die Zeit, welche zwischen Infektion und Behandlung verstrichen ist, einen konstanten Einfluß auf das Ergebnis. Gerade aus diesen Tatsachen geht aber hervor, daß die einverleibten Quecksilberpräparate nicht unmittelbar auf die Parasiten wirken, daß vielmehr Umwandlungen im Tierkörper vor sich gehen, welche die Wirkung erst ermöglichen. Diese Veränderungen der chemischen Substanz sind individuell außerordentlich verschieden[1]), und es wird daher begreiflich, daß die Bewertung der Präparate, wie sie sich aus diesen mit Recurrens angestellten Versuchen ergibt, durchaus nicht auch für andere, selbst noch so nah verwandte Spirochätenerkrankungen bei anderen Tierspezies Gültigkeit besitzt. So ergab z. B. ein Vergleich von T. 10 und C. 25, zwei isomeren Verbindungen, bei der Hühnerspirillose ein völliges Versagen des letzteren, während T. 10 bei nicht allzustarker Infektion in der Mehrzahl der Fälle zu einer Heilung führte, wie die folgenden Protokolle zeigen.

Tabelle IX.

Hühner mit Spirochätose infiziert 4./5., behandelt nach 24 Stunden intramuskulär mit T. 10.

Nr.	Dosis Hg. pro kg	Blutbefund am 5./5.	6./5.	7./5.	8./5.	9./5.	10./5.	11./5.	1./6.
1	1 mg	+	+	0	0	0	0	0	lebt
2	5 „	+	+	+	0	0	0	0	lebt
3	10 „	+	+	0	0	0	0	0	lebt
4	Kontrolle	+	++	†					
5	do.	+	++	∞	∞	∞	†		

Tabelle X.

Hühner infiziert 14./6., behandelt nach 24 Stunden intramuskulär mit C. 25.

Nr.	Dosis Hg pro kg	Blutbefund am 15./6.	16./6.	17./6.	18./6.	19./6.	20./6.	21./6.	22./6.	23./6.
1	5 mg	+	∞	∞	∞	∞	∞ k	∞ k	k	†
2	1 „	+	++	∞	†					
3	0,1 „	+	∞	∞	†					
4	Kontrolle	+	∞	∞	†					
5	do.	+	∞	∞	∞	++	†			

+ = vereinzelte Spirochäten.
++ = viele Spirochäten.
∞ = dichter Filz von Spirochäten.
k = Knäuel (Agglomeration).
† = tot.

[1]) Bei einem Mittel, welches wie das Salvarsan direkt auf die Parasiten zu wirken scheint und sie sehr schnell abtötet, spielt naturgemäß das individuelle Verhalten der Tiere eine viel kleinere Rolle.

Nicht selten zeigte ein sonst wirksames Mittel auch einen direkt schädigenden Einfluß auf die Tiere, indem sie früher als die Kontrolltiere eingingen. Diese Tatsache, die die Behandlung der Recurrensinfektion der Mäuse mit Merkurialien sehr erschwert, erklärt sich vielleicht dadurch, daß sowohl die Infektion wie auch das angewandte Mittel den Darm des Tieres schädigen. Unter den Krankheitssymptomen der Recurrensmäuse tritt, wie erwähnt, die Enteritis mit einem schleimigen, öfter sogar blutigen Durchfall stark in den Vordergrund, und ebenso ist es der Darm speziell, welcher durch die Ausscheidung des Quecksilbers mit schweren Reizerscheinungen reagiert, sodaß also eine Summierung der Noxen eintritt. Viele der Ungleichmäßigkeiten in den Versuchen müssen aber auch in individuellen Verschiedenheiten der Mäuse der Recurrensinfektion gegenüber ihre Erklärung finden.

Außer den bisher genannten Präparaten haben wir dann auch die Merkurierungsprodukte von Stoffen mit kondensierten Benzolkernen und solche von heterozyklischen Verbindungen geprüft, u. a. auch ein merkuriertes Chinin und ein durch Quecksilber substituiertes Methylenblau. Wir haben hier jedoch ebensowenig Erfolge gesehen wie bei Verwendung vollkomplexer Quecksilberverbindungen, d. h. solcher Substanzen, in denen beide Valenzen des Metalles an Kohlenstoffrest gebunden sind[1]).

[1]) Inzwischen ist auch von Kolle und seinen Mitarbeitern eine Reihe Quecksilberpräparate bei der Spirochätenkrankheit der Hühner geprüft worden (s. W. Kolle, M. Rothermund, J. Dale, Experimentelle Untersuchungen über die therapeutische Wirkung verschiedener Quecksilberpräparate bei der Spirochätenkrankheit der Hühner. Med. Klinik 1912 S. 65 ff.). Diese Untersuchung beschränkt sich im wesentlichen aber auf die bis heute in den Arzneischatz eingeführten etwa 15 Quecksilberheilmittel und zwar mit dem Resultat, daß sich eine Heilung der Hühnerspirillose mit irgend einem Quecksilberpräparat nur ganz zu Beginn der Erkrankung, aber niemals wie mit den organischen Arsenverbindungen bei vollentwickelter Infektion herbeiführen läßt. Die Quecksilberpräparate unterscheiden sich hierbei von den organischen Arsenverbindungen dadurch, daß sie langsamer wirken, und daß die Wirkung niemals eine so zuverlässige und sicher feststellbare ist, wie bei den organischen Arsenverbindungen. Die Wirkung der einzelnen Präparate selbst soll annähernd dem Quecksilbergehalte parallel gehen und zwar im Sinne der Ionentheorie! Zu diesen Versuchen weisen wir außerdem auf die Bemerkungen S. 22 über Spontanheilungen bei Hühnerspirillose hin. Mit dem von Blumenthal bei Kaninchensyphilis geprüften Natriumsalz der Quecksilberdi-p-aminobenzoesäure (s. F. Blumenthal. Über die Behandlung der experimentellen Kaninchensyphilis mit aromatischen Quecksilberdikarbonsäuren. Med. Klinik 1911 S. 1506 ff.) konnte im Gegensatz zu den Angaben dieses Autores nur mit sehr großen Dosen eine Beeinflussung der Hühnerspirillose beobachtet werden.

Wie aus den auf Seite 29 zitierten Arbeiten hervorgeht, sind unsere Quecksilberpräparate stark wirkende Desinfizientien. Sie töten auch in vitro die Spirochäten prompt ab; die Wirkung in vivo bleibt aber den obigen Ausführungen zufolge beträchtlich hinter jener zurück. Dies wird wohl am besten in Ehrlichschem Sinne dadurch erklärt, daß sie mehr organotrop als parasitotrop sind, und durch ihre Verankerung an Organzellen verhindert werden, überhaupt an die Spirochäten zu gelangen. Wie in anderen Versuchen nachgewiesen werden konnte, befinden sich die halbkomplexen Quecksilberverbindungen, intravenös injiziert, tatsächlich nur kurze Zeit in Zirkulation, um dann ganz besonders in der Leber aufgespeichert zu werden.

Die Wirkung von Arzneimitteln auf die Recurrensinfektion kann in zweierlei Weise erklärt werden: Entweder werden die Parasiten durch das Arzneimittel oder seine Umwandlungsprodukte abgetötet, oder es wird die Antikörpererzeugung seitens des Organismus durch das betr. Medikament gesteigert und so eine indirekte Wirkung erzielt. Wir haben nun eine Reihe von Versuchen angestellt, um zu erforschen, ob unter dem Einflusse der Merkurialien tatsächlich eine Steigerung der ja schon normalerweise einsetzenden Antikörperbildung nachzuweisen ist.

Zu diesem Zwecke haben wir eine Anzahl von Mäusen infiziert und sie teils unbehandelt gelassen, teils mit Quecksilberpräparaten behandelt. Diese Mäuse wurden zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Infektion bzw. Behandlung in Zitrat-Kochsalzlösung entblutet, die Blutkörperchen abzentrifugiert, das Plasma zwecks Abtötung noch darin vorhandener Spirochäten $^3/_4$ Stunden auf 45° erwärmt und in absteigenden Mengen ($^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$ und $^1/_{16}$ der Gesamtblutmenge je einer Maus) gesunden Tieren intraperitoneal injiziert. Am Tage nachher wurden die Mäuse nebst Kontrollen infiziert. Mit der Infektion mußten wir bis 24 Stunden nach der Seruminjektion warten, damit sich die Tiere von der Injektion von etwa 1 ccm Flüssigkeit in die Bauchhöhle erholen konnten. Allerdings kommt hierdurch die so erworbene passive Immunität nicht so deutlich zum Vorschein, als wenn Immunserum und Spirochäten auf einmal oder gar gemischt injiziert worden wären.

Wir haben in diesen Versuchen zwei von unseren wirksamen Quecksilberverbindungen angewandt, nämlich T. 10 und S. 48. Der Versuch zerfällt je nach der verschiedenartigen Behandlung der Mäuse in 5 Serien:

Serie 1 enthält unbehandelte Mäuse,

Serie 2 1 Stunde nach der Infektion mit T. 10 behandelte Mäuse,

Serie 3 1 Stunde nach der Infektion mit S. 48 behandelte Mäuse,

Serie 4 24 Stunden nach der Infektion mit T. 10 behandelte Mäuse,

Serie 5 24 Stunden nach der Infektion mit S. 48 behandelte Mäuse.

Tabelle XIa.

Gewinnung des Ausgangsmaterials für die folgenden Serien 1—5. (Tabelle 11b—11f.) Am 2./10. wurden einige Mäuse infiziert mit Blut einer Maus vom 3. Krankheitstage. (∞ Spiroch. pro Gesichtsf., verdünnt auf 1. Sp. pro Gesichtsf.) Jede Maus bekommt 0,2 ccm.

Serie	Nr.	Behandelt mit	Behandelt nach	Getötet nach 1. Tag 3./10.	2. Tag 4./10.	3. Tag 5./10.	4. Tag 6./10.	5. Tag 7./10.
				Zahl der Spirochäten				
Serie 1	1 A	Kon-		2,2 Getötet				
	2 B	trolle (s.	—	1,2	15 Getötet			
	3 C	Tab. 11 b,		1,6	30	∞ Getötet		
	4 D	Serie 1)		2,0	15	100	∞ Getötet	
Serie 2	5 A	T. 10	1 Stunde	1,6 Getötet				
	6 B	(s. Tabelle XI c,		0,8	15 Getötet			
	7 C	Serie 2)		0,8	30	50 Getötet		
	8 D			1,0	15	100	∞ Getötet	
	22 D			1,0	30	50	∞ Getötet	
Serie 3	9 A	S. 48	1 Stunde	0,6 Getötet				
	10 B	(s. Tabelle XI d,		0,6	25 Getötet			
	11 C	Serie 3)		0,8	20	∞ Getötet		
	12 —			1,8	30	∞	†	
	23 D			0,4	25	100	∞	0 Getötet
Serie 4	13 A	T. 10	24 Std.	0,6 Behand.	15 Getötet			
	14 B	(s. Tabelle XI e,		0,1 „	20	∞ Getötet		
	15 C	Serie 4)		0 „	20	∞	∞ Getötet	
	16 D			0,03 „	10	50	50	○ Getötet
Serie 5	17 A	S. 48	24 Std.	0,2 Behand.	10 Getötet			
	18 B	(s. Tabelle XI f,		0,7 „	25	∞ Getötet		
	19 C	Serie 5)		0,5 „	25	∞	∞ Getötet	
	20 D			0.1 „	30	∞	†	

Tabelle XIb.

Serie 1. **Mäuse, behandelt mit Blut der nicht behandelten Mäuse.**

Bezeichnung	Bezeichnung der Mäuse auf Tabelle XIa	Gewicht der vorbeh. Maus in g	Gegebene Blutmenge	Spirochäten 1. Tg.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
1. a	1 A	16	1/2	0	1	40	40	†						
b	"	11	1/4	0,2	10	25	50	1,5	10	10	†			
c	"	12	1/8	0,2	8	50	∞	†						
d	"	12	1/16	0,1	1	50	∞	∞	†					
e	Kontr.	—	—	0,7	10	∞	†							
f	"	—	—	†										
2. a	2 B	9	1/2	0,1	2	15	0	0	7	40	†			
b	"	15	1/4	0	0	15	†							
c	"	10	1/8	0,2	4	†								
d	"	11	1/16	0,4	8	80	†							
e	Kontr.	—	—	0,2	6	50	†							
f	"	—	—	0,3	5	†								
3. a	3 C	18	1/2	0	16	11	0,2	†						
b	"	11	1/4	†										
c	"	16	1/8	0,3	9	80	†							
d	"	12	1/16	0,05	6	†								
e	Kontr.	—	—	0,15	6	100	100	†						
f	"	—	—	0,15	10	100	100	0 getötet						
4. a	4 D	17	1/2	0	2	25	†							
b	"	17	1/4	0	5	20	10	†						
c	"	12	1/8	0,1	4	20	25	20	†					
d	"	10	1/16	0	6	50	†							
e	Kontr.	—	—	0,3	10	∞	∞	†						
f	"	—	—	0,2	12	50	∞	†						

Tabelle XI c.

Serie 2: **Mäuse behandelt mit Blut von Mäusen, die 1 Stunde nach der Recurrens-Infektion mit „T. 10" injiziert worden waren.**

Bezeichnung	Bezeichnung der Maus auf Tabelle XIa.	Gewicht	Blutmenge	Spirochäten bei der passiv immunisierten Maus, n. Tag nache der Infektion 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.
5. a	5 A	12	1/2	0	4	20	1,5	4	3,5	3	0	0,15	0	—	2	4	0	0	0	†
b	"	12	1/4	0,1	4	50	50	†												
c	"	15	1/8	0,3	5	50	†													
d	"	16	1/16	0	9	50	†													
e	Kontr.	—	—	0,7	10	∞	†													
f	"	—	—	†																
6. a	6 B	13	1/2	0,05	0,3	4	0,25	5	10	25	†									
b	"	14	1/4	0,05	8	20	†													
c	"	12	1/8	0,05	7	20	0,4	†												
d	"	16	1/16	0	0,4	30	0	1	†											
e	Kontr.	—	—	0,2	6	50	†													
f	"	—	—	0,3	5	†														

Fortsetzung von Tabelle XI e.

Bezeichnung		Bezeichnung der Mäuse auf Tabelle XI a.	Gewicht	Geg. Blutmenge	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
7.	a	7 C	22	1/2	0	0,7	10	10	30	†		
	b	„	20	1/4	0	22	∞	8	25	30	†	
	c	„	18	1/8	0	5	100	10	15	50	20	†
	d	„	16	1/16	0,1	5	50	†				
	e	Kontr.	—	—	0,15	6	100	100	†			
	f	„	—	—	0,15	10	100	100	0	Getötet		
8.	a	8 D	14	1/2	0,05	1,3	20	†				
	b	„	14	1/4	0	5	†					
	c	„	14	1/8	0,1	8	40	2	†			
	d	„	13	1/16	0	5	0	†				
	e	Kontr.	—	—	0,3	10	∞	∞	†			
	f	„	—	—	0,2	12	50	∞	†			
12.	a	22 D 9	12	1/2	0	0,35	1	25	†			
	b	„	10	1/4	0	2	15	3	15	5	†	
	c	„	12	1/8	0,05	15	20	†				
	d	„	14	1/16	0	10	30	†				
	e	Kontr.	—	—	0,3	10	∞	∞	†			
	f	„	—	—	0,2	12	50	∞	†			

Tabelle XI d.

Serie 3. Mäuse behandelt mit Blut von Mäusen, die mit „S. 48“ nach 1 Stunde injiziert worden waren.

Bezeichnung		Bezeichnung der Mäuse auf Tabelle XI a.	Gewicht	Geg. Blutmenge	Spirochäten bei der passiv immunisierten Maus n. Tage nach der Infektion													
					1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.
9.	a	9 A	12	1/2	0	4	30	0,5	0,1	1	1,5	1,7	2	0,5	†			
	b	„	14	1/4	0,1	8	50	30	†									
	c	„	10	1/8	0,2	6	6	0	0	0,05	0,8	5	†					
	d	„	11	1/16	0,2	7	25	0	2	20	0,1	0,3	0,3	0,01	—	12	0	†
	e	Kontr.	—	—	0,1	10	∞	†										
	f	„	—	—	†													
10.	a	10 B	16	1/2	0	1	†											
	b	„	12	1/4	0,05	0,4	0,05	0,05	2	†								
	c	„	16	1/8	0	0,4	0	0,05	†									
	d	„	15	1/16	0,1	4	25	†										
	e	Kontr.	—	—	0,2	6	50	†										
	f	„	—	—	0,3	5	†											
11.	a	11 C	14	1/2	0	1,4	40	†										
	b	„	12	1/4	0,04	6	100	†										
	c	„	16	1/8	0,3	8	†											
	d	„	10	1/16	0,4	8	†											
	e	Kontr.	—	—	0,15	6	100	100	†									
	f	„	—	—	0,15	10	100	100	0	Getötet								
23.	a	23 D	15	1/2	0	0,3	0,05	2	20	†								
	b	„	16	1/4	0	0	0	4	50	†								
	c	„	13	1/8	0,05	7	25	0,05	10	20	—	0	†					
	d	„	12	1/16	0	6	5	0,05	10	50	—	0	0	†				
	e	Kontr.	—	—	0,3	†												
	f	„	—	—	0,5	20	∞	†										

Tabelle XIe.

Serie 4: Mäuse, behandelt mit Blut von Mäusen, die mit „T. 10" 24 Stunden nach der Recurrensinfektion injiziert worden waren.

Bezeichnung	Bezeichnung der Mäuse auf Tabelle XIa.	Gewicht	Ger. Blutmenge	Spirochäten bei der passiv immunisierten Maus, n. Tage nach der Infektion										
				1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
13. a	13 A.	11	1/2	0,1	2	20	†							
b	„	11	1/4	0,1	5	15	1	†						
c	„	15	1/8	0,2	6	50	∞	†						
d	„	11	1/16	†										
e	Kontr.	—	—	0,8	10	∞	†							
f	„	—	—	0,2	†									
14. a	14 B.	16	1/2	0,06	10	100	20	†						
b	„	20	1/4	0	15	100	†							
c	„	17	1/8	0	10	100	†							
d	„	16	1/16	0	25	100	†							
e	Kontr.	—	—	0,3	20	∞	∞	∞	†					
f	„	—	—	0,2	17	∞	∞	†						
15. a	15 C.	19	1/2	0	0,5	0	0,15	†						
b	„	15	1/4	0,15	†									
c	„	13	1/8	0,2	2	†								
d	„	11	1/16	0,4	7	0,3	†							
e	Kontr.	—	—	0,3	10	100	∞	†						
f	„	—	—	0,2	10	100	∞	†						
16. a	16 D.	15	1/2	0	0	0	0,25	10	40	—	0,05	0,05	2	†
b	„	13	1/4	0	0	0	2	25	50	†				
c	„	15	1/8	0	0	0	4	20	0,1	—	1	6	†	
d	„	14	1/16	0	0	0,1	5	25	10	—	†			
e	Kontr.	—	—	0,3	†									
f	„	—	—	0,1	†									

Tabelle XIf.

Serie 5: Mäuse, behandelt mit Blut von Mäusen, die mit „S. 48" 24 Stunden nach der Recurrensinfektion injiziert worden waren.

Bezeichnung	Bezeichnung der Mäuse auf Tabelle XIa.	Gewicht	Ger. Blutmenge	Spirochäten bei der passiv immunisierten Maus, n. Tage nach der Infektion											
				1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
17. a	17 A.	16	1/2	0	0,5	0,1	0	2,4	15	0,2	0,8	0	†		
b	„	18	1/4	0	5	0	0,1	†							
c	„	14	1/8	0,1	3	0	0,05	0,3	†						
d	„	13	1/16	0	10	12	1,5	†							
e	Kontr.	—	—	0,8	10	∞	†								
f	„	—	—	0,2	†										
18. a	18 B.	12	1/2	0	10	100	†								
b	„	12	1/4	0	8	0,2	0,05	0,25	0	†					
c	„	14	1/8	0,05	10	50	0,5	5	20	20	†				
d	„	13	1/16	0,1	10	20	0,3	4	30	25	†				
e	Kontr.	—	—	0,3	20	∞	∞	∞	†						
f	„	—	—	0,2	17	∞	∞	†							

Fortsetzung von Tabelle XI f.

19.	a	19 C.	15	1/2	0	0,25	0,05	†						
	b	"	13	1/4	0	0	0,1	0,35	3	0	0	—	1	†
	c	"	16	1/8	0,2	4	40	†						
	d	"	14	1/16	0	6	0,3	0,05	0	†				
	e	Kontr.	—	—	0,3	10	100	∞	†					
	f	"	—	—	0,2	10	100	∞	∞	†				

Aus den Protokollen der Serie 1 (unbehandelte Mäuse, Tabelle XIb) läßt sich entnehmen, daß schon 24 Stunden nach der Recurrens-Infektion Schutzstoffe im Blute der Tiere vorhanden sind, die imstande sind, die Inkubationszeit zu verlängern (1a, 22b, 4a, b und d), bei einzelnen Tieren den Krankheitsverlauf hinauszuschieben und Remissionen zu begünstigen (1b, 2a, 3a). Doch möchten wir selbst den Einwand erheben, daß unter 7 Kontrollmäusen eine (3f) nach sehr schwerer Infektion eine Remission zeigte.

Ähnliches gilt auch von Serie 2 (Tabelle XIc) und 3 (XId). Dagegen fällt dieser Einwand weg bei Serie 4 und 5 (XIe und f), wo sämtliche Kontrollen nach 2—6 Tagen der Infektion erlagen. Der Unterschied zugunsten der vorbehandelten Mäuse tritt namentlich hervor in den Stäben 6, 7, 8 und 9 der Tabelle XIg.

Tabelle XIg.

Serie	Zahl d. Mäuse	Inkubationszeit verlängert um			durchschnittliche Lebensdauer	länger als 6 Tge. blieben am Leben	Remissionen traten ein bei	
		1 Tag	2 Tg.	3 Tg.			Versuchstieren	Kontrollen
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	16	9	1	—	3. 9 Tage	2	5 von 16	1 von 7
2	20	11	—	—	4. 7 "	5	9 " 20	1 " 9
3	16	7	—	1	5. 31 "	5	8 " 16	1 " 7
4	15	4	1	3	4. 13 "	4	7 " 15	0 " 8
5	12	7	1	—	5. 3 "	5	10 " 12	0 " 6

Beim Durchschnitt aller vorbehandelten Tieren war die Lebensdauer entschieden verlängert, wenn auch der Tod der Tiere nicht endgültig aufgehalten werden konnte. Am deutlichsten tritt aber die Tatsache, daß das zur Vorbehandlung verwendete Blut behandelter Tiere die damit geimpften Mäuse in dem Kampf des Organismus gegen die Parasiten unterstützt, darin zutage, daß die Parasitenzahlen niedriger bleiben und daß in einer großen Zahl der Fälle Remissionen eintreten. Am zweiten Tage der Infektion betrug die Zahl der Parasiten bei Serie 1 durchschnittlich 13,4 pro Gesichtsfeld, bei den Tieren der Serie 4 aber nur 5,9, in Serie 5 nur 5,5.

Diese Versuche weisen also darauf hin, daß in der Tat eine

Beförderung der Antikörperbildung durch die Injektion der Quecksilberverbindungen stattgefunden hat. Wenn uns eine wirksamere Substanz zur Verfügung stehen wird, so werden wir den Versuch mit einer anderen Technik wiederholen. Nach den bisherigen Ergebnissen gewinnt man den Eindruck, daß die Wirkung unserer Quecksilberpräparate eine indirekte ist (im Gegensatz zu den Arsenikalien) und daß sie vorwiegend auf einer Mobilisierung und Aktivierung der Schutzkräfte des Organismus selbst beruht. Selbstverständlich ist diese Annahme nur als eine Arbeitshypothese aufzufassen. Unentschieden bleibt z. B. die Frage, ob durch das Hg die Organe zu erhöhter Antikörperproduktion angeregt werden, oder ob die Parasiten abgetötet werden und nun als Antigene wirken. Diese Fragen werden Gegenstand weiterer Mitteilungen sein.

Um zu untersuchen, ob ein so eminent stark parasitotropes Mittel wie das Salvarsan analoge Immunwirkung zeigt, haben wir eine ähnliche Reihe von Versuchen mit diesem angestellt und zwar so, daß wir 4 Mäuse 24 Stunden nach der Infektion mit 1 ccm Salvarsan 1 : 700 pro 10 g Maus behandelten. Diese 4 Mäuse wurden 1, 2, 3, und 4 Tage nach der Behandlung getötet und deren Blut in der oben geschilderten Weise verarbeitet. Blut von unbehandelten Kontrollmäusen wurde zu gleicher Zeit untersucht. Die durchschnittliche Lebensdauer der Kontrollmäuse betrug in diesem Versuche 3,18 Tage, die der Salvarsanmäuse dagegen 2,44 Tage.

Die Details der Versuche ergeben sich aus den beigefügten Tabellen 11 und 12.

Tabelle XIIa.

Untersuchung der Antikörperbildung bei Recurrens-infizierten Mäusen,
15./10. die durch Salvarsan geheilt wurden.

Bereitung des Ausgangsmaterials.

	1. Tag 16./10.	2. Tag 17./10.	3. Tag 18./10.	4. Tag 19./10.	5. Tag 20./10.
1. Unbehandelt	Sp. 1,4	40 getötet			
2.	1,8	30	∞ getötet		
3.	1,8	30	100	∞ getötet	
4.	1,2	20	†		
5. Salvarsan 1 : 700	0,5 inj.	0 getötet			
6.	1,2 inj.	0	0 getötet		
7.	1,6 inj.	0	0	0 getötet	
8.	1,5 inj.	0	0	0	0 getötet

Tabelle XIIb.

A. 2 Tage n. d. Infektion, 1 Tag n. d. Beh. getötet.

Blut von Maus Nr.	Nr.	Geg. Blut.	Spiroch.-Befund 18./9.	19./9.	20./9.	21./9.	22./9.	23./9.	24./9.	25./9.
1. Nicht beh.	1	1/2	0	†						
(Tabelle 12a)	2	1/4	0	0	0,05	†				
	3	1/8	0,1	3	†					
	4	1/16	0,1	1,5	†					
5. Beh.	5	1/2	†							
(Tab. 12a)	6	1/4	0	2	21	30	100	15	†	
	7	1/8	†							
	8	1/16	0,05	0	†					
Kontr.	9	—	0,3	10	50	20	0,5	†		
	10	—	0,4	15	50	100	†			
	11	—	0,2	3	†					
	12	—	0,4	12	50	50	100	†		

B. 3 Tage n. d. Infektion, 2 Tage n. d. Beh. getötet.

Blut von Maus Nr.	Nr.	Geg. Blut.	Spiroch.-Befund 19./10.	20./10.	21./10.	22./10.	23./10.	24./10.	25./10.	26./10.	27./10.
2. Nicht beh.	1	1/2	0,1	7	50	3	5	†			
(Tab. 12a)	2	1/4	0,05	5	20	0,05	0,1	0,05	0,3	1	†
	3	1/8	†								
	4	1/16	0,3	15	50	†					
6. Beh.	5	1/2	0,05	18	25	15	0,7	0,15	10	25	†
(Tab. 12a)	6	1/4	0	†							
	7	1/8	0,1	0,2	†						
	8	1/16	0	†							
Kontr.	9	—	0,2	†							
	10	—	0,4	5	∞	†					
	11	—	0,2	10	∞	†					
	12	—	0	0,2	6	30	†				

C. 4 Tage n. d. Infektion, 3 Tage n. d. Behandl. getötet.

Blut von Maus Nr.	Nr.	Geg. Blut.	Spiroch.-Befund 20./9.	21./9.	22./9.	23./9.	24./9.	25./9.	26./9.	27./9.
3. Nicht beh.	1	1/2	0	0,6	0	†				
(Tab. 12a)	2	1/4	0,05	0	†					
	3	1/8	0	0,2	0	0	0	0	†	
	4	1/16	0	0	0	†				
7. Beh.	5	1/2	†							
(Tab. 12a)	6	1/4	0	4	17	15	0	0	1,4	†
	7	1/8	†							
	8	1/16	0	3	25	50	40	0	0	†
Kontr.	9	—	0	†						
	10	—	0	2	†					
	11	—	0,05	4	40	∞	†			
	12	—	0,05	5	25	†				

D. 5 Tage n. d. Infektion, 4 Tage n. d. Beh. getötet.

Blut von Maus Nr.	Nr.	Geg. Blut.	Spiroch.-Befund 21./9.	22./9.	24./9.	25./9.	26./9.
Behandl. 8.	1	1/2	0	†			
	2	1/4	*)				
	3	1/8	*)				
	4	1/16	0	0,15	20	50	†
Kontrolle	5	—	1,0	1	2	†	
	6	—	0,4	3	30	100	†
	7	—	0,3	5	†		
	8	—	1,0	†			

*) Tot am Tage nach der Seruminjektion, noch vor der Infektion.

Zusammenfassung.

Das Studium der Wirkung organischer Quecksilberverbindungen bei der Recurrensinfektion der Mäuse ist dadurch besonders erschwert, daß sowohl die Infektion als auch das Medikament den Darm der Versuchstiere angreifen und sich in dieser darmschädigenden Wirkung steigern.

Aus zahlreichen Gruppen merkurierter organischer Verbindungen wurden nur einige Vertreter der merkurierten Phenole als relativ wirksam befunden. Bei ihnen allen war das Quecksilber nur mit einer Valenz an den Benzolkern gebunden.

Es ist wahrscheinlich, daß diese Quecksilberverbindungen auf die spezifische Antikörperbildung im Organismus einen befördernden Einfluß ausüben.

Im Gegensatz hierzu konnten wir beim Salvarsan eine analoge Wirkung nicht feststellen, indem dies stark parasitotrope Präparat alle ihm zugänglichen Spirochätenabtötet, gleichzeitig aber so stark zu zerstören scheint, daß ihre antigenen Eigenschaften verloren gehen.

Aus der dermatol. Abteilung des Rudolf Virchow Krankenhauses Berlin.
Dirigierender Arzt San.-Rat Dr. Wechselmann.

Die Ausflockung kolloidalen Goldes durch Zerebrospinalflüssigkeit bei luetischen Affektionen des Zentralnervensystems.

Von

Dr. **Carl Lange,** Assistenzarzt.

Mit Tafel I/III.

Die Untersuchung der Zerebrospinalflüssigkeit hat bis jetzt noch lange nicht die genügende Beachtung gefunden, die ihr eigentlich zukommt; besonders auch für Prognose und Therapie der Lues in den frühesten Stadien scheint ihr eine Bedeutung zuzukommen, die sich nach dem heutigen Stande der Untersuchungen auch nicht annähernd abschätzen läßt.

Von den bisher klinisch verwerteten Reaktionen haben am meisten Bedeutung gewonnen die Cytodiagnostik, die quantitative Eiweißbestimmung, die sogenannte Phase I nach Nonne und die Wassermannsche Reaktion. Die physikalisch-chemischen Untersuchungsmethoden, wie Bestimmung des Gefrierpunktes, der Viskosität, des spezifischen Gewichtes, der elektrischen Leitfähigkeit, Oberflächenspannung, Alkaleszenz und die Polarisation haben bis jetzt keine klinisch verwertbaren Resultate ergeben, allerdings sind auch die Untersuchungen in dieser Richtung bisher leider noch sehr wenig umfangreich.

Von den Resultaten anderer chemischer Untersuchungsmethoden sei nur kurz hingewiesen auf die Bestimmung von Milch- und Phosphorsäure, außerdem auf den Nachweis von Cholin. Der behauptete Nachweis von Cholin in der Zerebrospinalflüssigkeit hat insofern viel Interesse erregt, als der Nachweis dieser Base als eines Spaltproduktes des Lecithins einen Hinweis auf destruierende Prozesse im Zentralnervensystem zu geben imstande wäre, doch ist durch die Untersuchungen Kauffmanns wohl endgültig nachgewiesen, daß Cholin in der Zerebrospinalflüssigkeit in nachweisbaren Mengen nicht vorkommt. Außerdem sind zu diesen Bestimmungen so große Quantitäten Liquor nötig, daß ihre

klinische Verwertbarkeit schon dadurch unmöglich gemacht würde[1]).

Auf die Cytodiagnostik und die Wassermannsche Reaktion im Liquor können wir hier nicht näher eingehen; die Erfahrungen, die wir mit diesen sehr feinen Methoden an einem größeren Material von Frühluetischen gesammelt haben, werden wir in nächster Zeit in anderem Zusammenhang besprechen.

Das Haupterfordernis, das an eine klinisch brauchbare chemische Untersuchungsmethode der Zerebrospinalflüssigkeit gestellt werden muß, ist, daß man zur Untersuchung mit möglichst kleinen Flüssigkeitsmengen auskommt, nur dann kann man die Punktion unbedenklich öfter wiederholen, was zwar für rein diagnostische Zwecke nicht in Frage kommt, wohl aber dann, wenn man an der fortlaufenden Untersuchung des Liquor einen Maßstab für den Effekt der eingeschlagenen Therapie haben will. Dieser Anforderung wird die Phase I in höchstem Maße gerecht, denn man kann diese Reaktion, die außerdem an Einfachheit nichts zu wünschen läßt, bereits mit sehr kleinen Quanten vollkommen exakt ausführen. Wenn man nach drei Minuten abliest, ist die entstandene Trübung von den verwendeten Quanten ganz unabhängig. Nur bleiben hier die ganz feinen Ausschläge zu berücksichtigen, was gerade für Frühluetiker besonders wichtig ist, die sich nur durch eine Ablesung nach ca. 24 Stunden kontrollieren lassen. Die durch Ammonsulfat erzeugten Eiweißfällungen setzen sich meist erst nach einiger Zeit ab und relativ häufig sieht man nach 24 Stunden in der Flüssigkeit eine kleine Flocke suspendiert, wo man nach drei Minuten auf keine Weise imstande war, zu entscheiden, ob die Reaktion als positiv oder negativ zu bezeichnen sei. Ob aber eine Flockenbildung nach 24 Stunden als pathologisch anzusehen ist, darüber sind die Erfahrungen wohl noch nicht abgeschlossen, jedenfalls scheint es uns so, als ob normale Zerebrospinalflüssigkeiten auch nach 24stündigem ruhigen Stehen keine Flocke absetzen. Die Größe der Flockenbildung ist nun selbstverständlich von der Menge verwendeten Liquors abhängig im Gegensatz zu der nach drei Minuten zu beobachtenden Trübung, wir verwenden regelmäßig

---

[1]) Wenn man einen Einblick in diese Verhältnisse gewinnen will, so empfiehlt sich vorläufig wohl noch eher für klinische Zwecke die Bestimmung des Trimethylamins im Harn, dessen Vermehrung auch auf den Zerfall von Lezithin hindeutet und bei Ausschluß des Nahrungslezithins unter Umständen einen Schluß auf destruierende Prozesse im Zentralnervensystem gestattet.

1 ccm Liquor, dem wir 1 ccm konzentriertes Ammonsulfat zusetzen, und notieren nach 3 Minuten und nach 24 Stunden. Für Frühluetiker gilt betreffs der Phase I jedenfalls, daß undeutliche Reaktionen sehr häufig sind und daß die Methode hierfür nicht fein genug ist, um meßbare Veränderungen nach therapeutischen Maßnahmen konstatieren zu können.

Nach Abzentrifugieren oder Filtrieren des durch Halbsättigung mit Ammonsulfat erzeugten Niederschlages gibt bekanntlich auch jeder normale Liquor bei Kochen und Zusatz von Essigsäure eine Trübung; gröbere Unterschiede lassen sich hierin nicht erkennen, so daß dieser Reaktion wohl keine größere Bedeutung zukommt.

Hingegen läßt sich nach Ansetzen der Phase I sehr wohl noch eine Reaktion mit dem Liquor anstellen, die Unterschiede zwischen normalen und patholgoischen ergibt. Zentrifugiert man die nach Halbsättigung mit Ammonsulfat entstandene Trübung nach 24 Stunden ab, was relativ leicht zu bewerkstelligen ist, und sättigt die klare Lösung ganz mit Ammonsulfat durch Zusatz von berechneten Mengen Ammonsulfat in Substanz, so kann man bei Affektionen des Zentralnervensystems zuweilen eine sehr starke Trübung bemerken, allerdings ergeben normale auch eine leichte Trübung. Die Ausschläge können sehr stark sein und sind zuweilen zu finden, wo Phase I negativ ausfällt. Die Reaktion ist unbequemer als Phase I, immerhin lohnt es sich wohl, weitere Erfahrungen damit zu sammeln.

Durch welche Arten von Eiweißkörpern die verschiedenen Reaktionen bedingt werden, läßt sich wohl zurzeit noch nicht einwandsfrei entscheiden; die Phase I wird meist auf Globuline und Nukleoalbumine bezogen, doch liegen unseres Wissens bis jetzt noch keine Untersuchungen vor, die diese Fragen einwandsfrei entscheiden. Die Schwierigkeit derartiger Untersuchungen ist hauptsächlich dadurch bedingt, daß man mit den bekannten Fällungsmethoden — zum mindesten bei normalen Zerebrospinalflüssigkeiten — so geringe Fällungen erhält, daß man sie kaum einer weiteren Untersuchung unterziehen kann. Die Zerebrospinalflüssigkeit von Leichen, die man sich eventuell in reichlicheren Mengen verschaffen könnte, sind zu derartigen Untersuchungen nicht geeignet, besonders auch, wenn es sich um den Nachweis von Albumosen handeln sollte. Außerdem können in pathologischen Zerebrospinalflüssigkeiten die Trübungen bei Anwendung gleicher Fällungsmittel durch ganz verschiedene Körper hervorgerufen werden. Auch auf einen

Punkt möchten wir hinweisen, der unseres Wissens bis jetzt noch nicht genügend berücksichtigt wurde, nämlich die Reaktion. Zerebrospinalflüssigkeit reagiert nämlich deutlich alkalisch, und zwar gibt sie im Gegensatz zu Blutserum eine deutliche Rotfärbung mit Phenolphthalein, und schon beim einfachen Zusatz von bestimmten Phenolphthaleinmengen zu abgemessenen Liquormengen kann man deutliche Unterschiede erkennen, indem sich manche Zerebrospinalflüssigkeiten nur andeutungsweise rosa, andere hingegen sofort intensiv rot färben; nach einigem Stehen gleichen sich diese Unterschiede aus, und man sieht stets eine ganz intensive rote Färbung. Welche Bedeutung diesen Unterschieden zukommt, konnten wir bis jetzt nicht feststellen, jedenfalls ist im Auge zu behalten, daß Fällungen mit Ammonsulfat durch derartige Reaktionsunterschiede eventuell ganz wesentlich beeinflußt werden können. Eine Titrierung mit $^{n}/_{100}$ Salzsäure wird dadurch erschwert, daß sich die Färbung nach Phenolphthaleinzusatz erst nach Stunden in voller Stärke entwickelt, und außerdem hält der Liquor seine alkalische Reaktion sehr ausdauernd fest. Hat man ihn nämlich durch Zusatz abgemessener Mengen von $^{n}/_{100}$ Salzsäure farblos gemacht, so ist er nach einigen Stunden wieder so intensiv rot wie zuvor, und dieser Vorgang kann sich sieben- bis achtmal und noch öfter wiederholen. Der angeführten Schwierigkeiten wegen haben wir vorläufig die Alkaleszenz des Liquor weniger berücksichtigt, doch wird es wahrscheinlich mit Hilfe der Gaskettenmethode oder geeigneter Indikatoren leicht möglich sein, diese Verhältnisse zu klären[1]).

Um nun auf die fragliche Natur der im Liquor vorkommenden Eiweißkörper zurückzukommen, so widersprechen sich die Angaben der bisherigen Untersucher in einer Weise, daß man diese Frage bis jetzt noch als vollkommen ungeklärt ansehen muß.

Wir machten nur einige orientierende Versuche in dieser Richtung, die uns die Schwierigkeit derartiger Untersuchungen an kli-

---

[1]) Dieser Punkt ist wahrscheinlich auch von gewisser Bedeutung für den Ausfall der Wassermannschen Reaktion in der Zerebrospinalflüssigkeit. Bekanntlich wird ein positiver Ausfall der Wassermann'schen Reaktion im Blutserum durch ein Abstumpfen der alkalischen Reaktion begünstigt, da nun die Alkaleszenz des Liquor noch stärker ist, lassen sich die meist negativen Resultate vielleicht hierdurch erklären. Einmalige Neutralisation auf $^{n}/_{100}$ Salzsäure führte bis jetzt zu keinem Ergebnis, da durch Ausfällungen stärkere Eigenhemmung auftrat. Diese Verhältnisse sind jedenfalls noch einer genaueren Untersuchung zu unterziehen.

nischem Material hinlänglich klarmachten. Da gröbere Fällungen nur von pathologischen Zerebrospinalflüssigkeiten zu erhalten sind und wir fast niemals mehr als 10 ccm Liquor zur Verfügung hatten, untersuchten wir nur Liquor mit starkem Eiweißgehalt; über die Beschaffenheit normalen Liquors besagen diese Versuche demzufolge gar nichts.

Die nach Halbsättigung mit Ammonsulfat entstandene Fällung aus mehreren Kubikzentimeter Liquor wurde abzentrifugiert und das Sediment durch Hinzufügen destillierten Wassers im anhaftenden Ammonsulfat zur klaren Lösung gebracht. Beim Kochen ergab die klare Lösung eine minimale Trübung, die nach Abzentrifugieren sich in keiner Weise mehr lösen ließ und wohl auf Globulin zu beziehen ist. Die klarzentrifugierte Lösung gab nach Erkalten einen stärkeren Niederschlag mit verdünnter Essigsäure, der abzentrifugiert sich wieder in verdünnter Soda löste und wohl Nukleoproteiden entspricht. Die restierende klare Lösung gab nochmals einen Niederschlag bei Halbsättigung mit Ammonsulfat oder Zusatz von absolutem Alkohol im Überschuß, was wohl am ehesten für eine Albumose (Proto- oder Hetero-) spricht. Die bei Ganzsättigung mit Ammonsulfat in Substanz erzielten zum Teil recht beträchtlichen Trübungen ließen sich leider nicht weiter verarbeiten, da sie sich zwar ganz gut zu dicken Flocken in der klarwerdenden Flüssigkeit zusammenzogen, sich aber aus der konzentrierten Ammonsulfatlösung selbst nach stundenlangem Zentrifugieren auf einer elektrischen Zentrifuge nicht absetzten. Um dies zu ergänzen, untersuchten wir die durch Zusatz der neunfachen Menge absoluten Alkohols im Liquor erzeugten Niederschläge. Bemerken möchten wir hier gleich, daß die Stärke der durch Alkohol erzeugten Sedimente, die sich sehr schnell spontan sedimentieren, sehr wohl für klinische Zwecke neben der Phase I brauchbar ist. Normale Lumbalflüssigkeiten geben allerdings auch eine, aber ganz geringe Trübung, pathologische dagegen zum Teil recht massige Sedimente, die stärkere Grade wie Phase I erreichen und darum leichter abzuschätzen sind, außerdem ist zu bemerken, daß beide Reaktionen nicht parallel miteinander gehen; normale Lumbalflüssigkeiten scheinen stets dieselbe minimale Ausflockung zu geben.

Auffällig war übrigens, daß diese durch Alkohol erzeugten Niederschläge sich auch nach längerer Berührung mit dem Alkohol in Kochsalzlösung wieder klar lösten, also keine sichtbare Koagulation von Eiweißkörpern durch den Alkohol zu finden war,

auch beim Kochen ergaben die klaren Lösungen keine sichtbare Trübung, eine Trübung trat dann ein nach Zugabe von Essigsäure, die sich in Soda wieder löste, die restierende Lösung ergab eine Trübung sowohl bei Halb- wie bei Ganzsättigung mit Ammonsulfat, was neben primären wohl auch für Deuteroalbumosen spricht; durch Zusatz von mit Ammonsulfat gesättigter verdünnter Schwefelsäure ließ sich keine sichtbare weitere Fällung erzielen. Ob übrigens bei diesen Fällungen die Reaktion auch eine größere Rolle spielt, haben wir bis jetzt nicht berücksichtigt. Bei Zusatz von Essigsäure zum unerhitzten Liquor trat jedenfalls bei den darauf untersuchten Lumbalflüssigkeiten keine Trübung auf, was für die Abwesenheit größerer Mengen mucinähnlicher Substanzen spricht.

Daß übrigens in pathologischen Lumbalflüssigkeiten bei der durch Halbsättigung mit Ammonsulfat erzeugten Ausfällung die Globuline nur einen bestimmten kleinen Teil ausmachen können, schien uns außer aus dem Umstand, daß durch Zusatz von Alkohol im Liquor keine merkbaren Mengen von Eiweißkörperchen irreversibel koaguliert werden, auch aus folgender Versuchsanordnung hervorzugehen. Wir unterwarfen mehrere stark eiweißhaltige Zerebrospinalflüssigkeiten von syphilitischen und metasyphilitischen Erkrankungen der Dialyse gegen häufig gewechseltes destilliertes Wasser während ca. 48 Stunden; schon nach dieser Zeit hatte sich aus der meist nur wenige Kubikzentimeter betragenden Flüssigkeit ein verhältnismäßig massiges Sediment abgesetzt, das von der Flüssigkeit durch Zentrifugieren abgetrennt wurde. Die beim Dialysieren erhaltene klare Flüssigkeit gab beim Kochen eine fast unmerkliche Trübung, die sich auf Essigsäurezusatz nicht vermehrte und auf keine Weise mehr in Lösung zu bringen war. Der beim Dialysieren erhaltene Bodensatz wurde 24 Stunden mit 0,85 % Kochsalzlösung digeriert, wobei nur ein geringer Teil in Lösung ging, der beim Kochen eine minimale Trübung ergab und unlöslich blieb; der restierende Teil des Bodensatzes war erst bei Zusatz stark verdünnter Sodalösung löslich, fiel nach Kochen und Essigsäurezusatz aus, die Trübung war in Soda wieder löslich.

Wenn uns nun auch die Unzulänglichkeit dieser wenigen Untersuchungen vollkommen klar ist, so geht unseres Erachtens daraus doch hervor, daß man auch die einfachen Fällungsmethoden noch weiter zu differenzieren versuchen muß, denn erstens erscheinen Globuline und Albumine gegenüber einem oder gar verschiedenen Nukleoproteiden in pathologischen Zerebrospinalflüssigkeiten sehr

zurückzustehen, und außerdem ist auch noch die Anwesenheit einer oder mehrerer Albumosen wahrscheinlich. Die Phase I nun aber ist eine Gruppenreaktion, durch die man von dem Verhältnis, in dem die verschiedenen möglicherweise vorhandenen Eiweißkörper zueinander stehen, in keiner Weise unterrichtet wird.

In Anbetracht der hier angedeuteten Verhältnisse machten wir daher den Versuch, eine der feinsten neueren Eiweißuntersuchungsmethoden auf die Untersuchung des Liquor zu übertragen, nämlich die Bestimmung der „Goldzahl“ nach Zsigmondy.

Auf die Eigenschaften kolloidalen Goldes näher einzugehen, ist hier nicht der Ort, wir wollen nur anführen, daß Zsigmondy in Anlehnung an ältere Methoden kolloidales Gold durch Reduktion von Goldchlorid unter Zusatz von Alkali herstellte, im Gegensatz z. B. zu der Methode von Bredig, der kolloidales Gold durch Verteilung von metallischem Gold im elektrischen Lichtbogen unter Wasser herstellte.

Das kolloidale Gold ist eine absolut klare, durchsichtige Flüssigkeit von prachtvoll satter, purpurroter Farbe, das keine Trübungen zeigen und auch nach monatelangem Aufbewahren kein Sediment absetzen darf. Die Herstellung des kolloidalen Goldes macht einige Schwierigkeiten, und wir müssen deshalb auf die Darstellung näher eingehen, da hiervon die Richtigkeit der Untersuchungsresultate wesentlich abhängt.

Die Herstellungsvorschrift von Zsigmondy lautet: 120 ccm reinstes destilliertes Wasser werden in einem Jenenser Kolben von 300·500 ccm Inhalt zum Sieden erhitzt; während des Erhitzens werden 25 ccm einer Lösung von Goldchloridchlorwasserstoff hinzugegeben, welche 6 g $Au\,Cl\,4\,H_1\,3\,H\,20$ (Aurum crystallisatum flavum Merck) in 1000 ccm Wasser enthält und 3,0—3,5 ccm reinstes Kaliumkarbonat (0,18 normal). Gleich nach dem Aufkochen entfernt man die Flamme und gibt 3,5 ccm verdünntes Formalin (0,3 ccm käufliches Formol in 100 ccm H 20) schnell, aber portionsweise, hinzu. Unter intensivem Schütteln tritt eine blaßrosa Färbung auf, die bald in die tiefpurpurrote Farbe des kolloiden Goldes umschlägt.

Hierzu ist noch zu bemerken, daß Hauptbedingung für die Erzielung guter hochroter Goldlösungen die Verwendung absolut reinen destillierten Wassers ist. Käufliches destilliertes Wasser ist zur Herstellung von Goldlösungen absolut unbrauchbar, wie wir uns bei wiederholten Versuchen überzeugen konnten. Am besten

wird käufliches destilliertes Wasser noch einmal destilliert unter Verwendung eines Silberkühlers von Heräus in Hanau oder eines Porzellankühlers der Kgl. Porzellanfabrik. Wir destillieren jetzt käufliches destilliertes Wasser noch einmal unter Verwendung eines gewöhnlichen Glaskühlers und erzielen auf diese Weise gute hochrote Lösungen, die sich anscheinend unbegrenzte Zeit unverändert erhalten. Am besten sind natürlich Destillierapparate ohne Korken nur mit Glasschliffen, doch verwenden wir das doppelt destillierte Wasser aus einem einfachen Destillierapparat mit Korkstopfen und Glaskühler, mit dem wir auf der Station das doppelt destillierte Wasser für intravenöse Salvarsaninvektionen stets frisch herstellen[1]).

Selbstverständlich ist neben der Verwendung sehr reinen destillierten Wassers auch die Benutzung peinlichst sauberer Gefäße unumgänglich nötig. Da Alkali aus Glas sehr schwer auszuspülen ist, werden die Glasgeräte am besten mit einer Mischung von roher Schwefelsäure und Kaliumbichromatlösung gereinigt, dann wird mit viel Leitungswasser, darauf mit gewöhnlichem und zum Schluß mit dem zur Verwendung gelangenden reinsten destillierten Wasser nachgespült; auf diese Weise gereinigte Glasgefäße sind einwandfrei gesäubert.

Außerdem fiel uns zufällig auf, daß die Herstellung hochroter Goldlösungen viel besser gelang bei Verwendung von Bechergläsern als mit Kolben, auch früheren Untersuchern war, wie wir nachträglich fanden, diese Tatsache schon bekannt; ja es ist sogar nachgewiesen, daß die Glassorte von Einfluß auf die Farbe des Goldsols ist, am besten ist jedenfalls die Verwendung großer Bechergläser

[1]) Durch die Herstellung von Goldkolloid kann man übrigens die Unreinlichkeiten, mit denen destilliertes Wasser behaftet ist, am feinsten nachweisen. Interessant in dieser Richtung ist, daß es uns einmal vollkommen unmöglich war, Goldsol herzustellen, und daß sich dann herausstellte, daß inzwischen der Korkstopfen am Destilierapparat gegen einen neuen Gummistopfen vertauscht war; nach Ersatz des Gummistopfens durch Kork war die Herstellung hochroter Goldlösungen sofort wieder möglich, es empfiehlt sich daher, um keine Vorsichtsmaßregel zu versäumen, das zur Salvarsaninjektion verwendete doppelt destillierte Wasser hin und wieder dadurch zu kontrollieren, das man mit dem zu verwendenden Wasser einen Versuch macht, ob man damit hochrote Goldlösungen herstellen kann, was absolut keine große Mühe verursacht; man kann sich dadurch leicht vor unliebsamen und sonst ganz unerklärlichen Fieberreaktionen schützen. Noch zu bemerken ist, daß auch das erste Quantum von Ca 100—200 ccm, das man aus käuflichem destiliertem Wasser abdestilliert, blaurote Goldlösungen ergibt; diese Portion ist demnach sowohl für Salvarsaninjektionen als auch für die Goldsolbereitung auszuscheiden.

aus Jenenser Glas. Auch die Erhitzung ist von Einfluß, die Flüssigkeit muß möglichst schnell zum Kochen kommen; bei manchen Asbestpappen, bei deren Verwendung die Flüssigkeit merklich eindampfte, bevor sie kochte, trat eine Rotfärbung nach Formalinzusatz überhaupt nicht ein. Die verwendeten Chemikalien müssen selbstverständlich bei einer so empfindlichen Methode auch von größter Reinheit sein, am meisten empfiehlt sich die Verwendung von Aurum cryst. flav. Merck und Kaliumkarbonat puriss. pro anal. Merck, das käufliche Formol ist gut brauchbar.

Nur bei Innehaltung all dieser kleinen Vorsichtsmaßregeln erhält man gleichmäßig hochrote Lösungen, während bei unsauberem Arbeiten schmutzigblaue oder blaurote Nuancen erzielt werden, wobei die Lösungen zum Teil schnell alles Gold absetzen und wasserklar werden können.

Diese kolloidalen Goldlösungen haben nun die Eigenschaft, bei Elektrolytzusatz ausgeflockt zu werden: bei Mischung einer bestimmten Menge Goldsol und Kochsalzlösung wird das erstere schnell blau, um im Verlauf weniger Stunden unter Absetzung eines geringen blauschwarzen Goldschlammes vollkommen wasserklar zu werden.

Sehr wichtig war nun die Entdeckung von Zsigmondy, daß Eiweißkörper diese Ausflockung des Goldsols durch Elektrolyse zu verhindern imstande sind. Dieser „Goldschutz“ ist für die einzelnen Eiweißkörper quantitativ verschieden, und als „Goldzahl“ bezeichnet man die Anzahl mg eines Eiweißkörpers, die eben imstande sind, 5 ccm Goldsol gegen die Ausflockung durch 0,5 ccm 10% Kochsalzlösung zu schützen. Jeder Eiweißkörper hat demnach eine bestimmte für ihn charakteristische Goldzahl, mit deren Hilfe man entweder feststellen kann, ob der betreffende Eiweißkörper vollkommen rein isoliert ist, oder mit der man, falls letzteres bekannt ist, auch quantitativ bestimmen kann, in welcher Konzentration man einen bekannten Eiweißkörper vor sich hat. Außer von Eiweißkörpern ist es auch von Seifen bekannt, daß sie Goldschutz geben, unter den kolloidalen Eiweißspaltprodukten verdienen in diesem Rahmen die Albumosen noch ein besonderes Interesse. Während nämlich Proto- und Heteroalbumosen Goldschutz geben, verhalten sich Deuteroalbumosen trotz ihres kolloiden Charakters umgekehrt, sie flocken nämlich ebenso wie ein Elektrolyt Goldsol aus und zwar auch in Gegenwart von solchen Mengen von Eiweiß-

körpern, die gegen Ausflockung durch Elektrolyte zu schützen vermögen[1]).

Wir gingen eigentlich bei unseren Versuchen davon aus, festzustellen, ob sich mit der Goldmethode Unterschiede zwischen luetischen und normalen Seren feststellen ließen. Diese Versuche haben nun, wie gleich bemerkt sei, noch keine brauchbaren Resultate geliefert, und wir stellten sie inzwischen zurück, da wir bei Übertragung der Versuchsanordnung auf die Zerebrospinalflüssigkeit schneller zu greifbaren Resultaten kamen, immerhin aber müssen wir zum Verständnis des folgenden die Versuche an Seren kurz andeuten.

Wenn man Sera zwecks Feststellung der Goldzahl mit destilliertem Wasser verdünnt, ergeben sie Goldschutz, zwischen luetischen und normalen ließen sich dabei keine gesetzmäßigen Unterschiede finden. Selbstverständlich wird bei dieser Verdünnung der Sera mit destilliertem Wasser ihr Gehalt an Globulinen und Nukleoproteiden nicht mit berücksichtigt, da diese Körper bei Verdünnung mit destilliertem Wasser ausgefällt werden. Um nun möglichst alle Eiweißkörper des Serum bei Bestimmung der Goldzahl mit berücksichtigen zu können, verdünnten wir versuchsweise die Seren mit physiologischer Kochsalzlösung, die Globuline zum mindesten bleiben dabei in Lösung; bei dieser Versuchsanordnung machte sich nun der Umstand störend geltend, daß 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung 5 ccm Goldsol bereits ausflocken, während 1 ccm keinen allzu deutlichen Farbumschlag bewirkt. Aus diesem Grunde gingen wir dann mit dem Kochsalzgehalt tunlichst herunter und verdünnten die Sera mit einer 0,4 % Kochsalzlösung, in der Globuline eben noch gelöst bleiben, auch fügten wir zu 5 ccm Goldsol nie mehr als 1 ccm der Verdünnung. Hierbei zeigte sich nun, daß die mit 0,4 % NaCl verdünnten Sera bei einem bestimmten Verdünnungsoptimum, das um $^1/_{1500}$ herum liegt, das Goldsol allein ausflocken, während mit destilliertem Wasser verdünnte Sera in keiner Verdünnung allein ausflocken, sondern einen absinkenden Gold-

[1]) Diese Tatsache haben wir zum Nachweis proteolytischer Fermente benutzt. Setzt man zu einer Eiweißlösung Pepsin oder Trypsin und gleichzeitig Goldsol hinzu, so besteht hochrote Färbung, setzt man nun die Röhrchen bei 37° in den Brutschrank, so tritt, wenn die genuinen Eiweißkörper in genügender Menge abgebaut und Deuteroalbumosen gebildet sind, ein Farbloswerden des Goldsols ein; eventuell ist der zeitliche Eintritt des Farbumschlags zu quantitativen Ferment und Antifermentbestimmungen zu verwerten.

schutz gegen Ausflockung durch Elektrolyt zeigen. Diese Ausflockung kann nicht mit dem Kochsalzgehalt der Verdünnungen zusammenhängen, denn 1 ccm 0,4 % NaCl läßt 5 ccm Goldsol vollkommen unverändert, außerdem zeigen die mit Kochsalz verdünnten Sera in einiger Entfernung von dem Ausflockungsoptimum sogar Goldschutz, doch wollen wir hierauf nicht näher eingehen. Bemerkt sei hier nur noch, daß auch mit dieser Reaktion der Ausflockung durch kochsalzverdünnte Sera sich keine merklichen Unterschiede zwischen luetischen und normalen Seren finden lassen.

Es lag nahe, im Rahmen dieser Untersuchungen auf die Globuline näher einzugehen, weil sie in eine gewisse Beziehung zu den im Serum und Liquor durch eine luetische Infektion hervorgerufenen Veränderungen gebracht werden können. Bekannt ist, daß man mit der durch Dialyse abgetrennten „Globulinfraktion" des Serum allein die Wassermannsche Reaktion anstellen kann, und auch die Phase I wird ja wohl meist auf Globuline bezogen. Wir konnten uns auch selbst bei einer größeren Reihe von luetischen Seren davon überzeugen, daß die im Serum durch Halbsättigung mit Ammonsulfat hervorgerufene „Globulinausfällung" meist vermehrt ist, ohne daß allerdings diese Verhältnisse mit der Wassermannschen Reaktion ganz parallel gehen, bekannt sind diese Verhältnisse ja auch schon durch die Klausnersche Reaktion der Ausfällung der „Globuline" durch Verdünnung mit destilliertem Wasser.

Bei all diesen Reaktionen ist aber immer zu berücksichtigen, daß sowohl bei der Darstellung der Globuline durch Dialyse, wie auch bei der Ausfällung durch Ammonsulfat oder Verdünnung mit destilliertem Wasser stets Nukleoproteide zusammen mit den Globulinen ausgefällt werden, und wenn dieselben auch im normalen Serum an Menge hinter den Globulinen weit zurückstehen, so ist damit noch nicht erwiesen, daß die Vermehrung der Ausfällung in pathologischen Seren und Zerebrospinalflüssigkeiten nicht hauptsächlich auf Nukleoproteide zurückgeführt werden kann, für Liquor zum mindesten ist uns dies sogar sehr wahrscheinlich; bei der Ammonsulfatfällung ist dann außerdem noch die Beteiligung von Albumosen möglich und im pathologischen Liquor sogar wahrscheinlich, während sie ja im normalen Serum in nachweisbaren Mengen nicht vorkommen.

Wenn wir nun auch die Verdünnung mit 0,4 % NaCl statt mit destilliertem Wasser wählten, um die Globuline in Lösung zu be-

halten, so ist doch nicht erwiesen, daß der Unterschied in den Reaktionen auf Globuline zurückzuführen ist, Zsigmondy gibt auch für Globulin eine Goldschutzzahl an und keine Ausflockung; immerhin scheint uns diese Frage noch einer genaueren Untersuchung zu bedürfen.

Für klinische Zwecke sind Unterschiede im Ausfall derartiger Reaktionen sehr wohl brauchbar, auch wenn es vorläufig nicht möglich ist, den Chemismus genau darzulegen, immerhin ist die Goldmethode sehr wohl geeignet, selbst bei kleinen Mengen Materials die chemische Natur eines Körpers näher zu bestimmen, indem man ihn durch verschiedene Maßnahmen, fraktionierte Aussalzung, Dialyse usw., entweder zu isolieren versucht, wobei seine Wirkung eventuell noch deutlicher in Erscheinung tritt, oder indem man versucht, durch welche Behandlung seine Wirkung aufgehoben wird, z. B. Kochen, Veränderung der Reaktion usw. Auf diese Weise ist es möglich, ohne Analyse einen Körper näher zu definieren, indem man z. B. die von Eiweißkörpern bekannten Reaktionen durchprobt und sieht, mit welchen Stoffen der vorliegende Körper am meisten Ähnlichkeit hat. Aus den angeführten Gründen mußte die beschriebene Methode für die klinische Untersuchung von Zerebrospinalflüssigkeit besonders geeignet sein, weil man auf diese Weise die annähernde chemische Differenzierung eines Körpers bei Verwendung minimalster Mengen noch am ersten erwarten kann. Ein Beispiel möge dies erklären; haben wir einen isolierten gelösten Eiweißkörper, der Goldschutz gibt und durch Kochen koaguliert wird, so kann die Konzentration so gering sein, daß beim Kochen keine sichtbare Trübung auftritt, wodurch sich die Anwesenheit des Eiweißkörpers verraten könnte; anders dagegen bei der Goldmethode. Eiweißkörper zeigen noch in sehr starken Verdünnungen Goldschutz, kochen wir nun eine derartige stark verdünnte Eiweißlösung, wobei der Eiweißkörper koaguliert wird, ohne eine sichtbare Trübung zu geben, so muß jetzt der Goldschutz der Lösung verschwunden sein. Für Mischungen verschiedener Körper liegen die Verhältnisse natürlich viel komplizierter, besonders da verschiedene Körper sich gegenseitig in Lösung halten können, immerhin ist die Goldmethode geeignet, einen Weg zu zeigen, wo andere chemische Methoden bereits vollkommen versagen. Für derartige differenzierende Untersuchungen an Eiweißkörpern ist unseres Wissens die Goldmethode bisher noch nicht verwendet worden, obwohl ihr gerade in biologischen Fragen, wo

die Beschaffung größerer Mengen von Untersuchungsmaterial häufig so schwierig ist, noch ein weites Feld offen steht.

Kommen wir nun auf unsere Versuche an luetischen Seren zurück, so wollen wir nur noch soviel anführen, daß sich nach Anwendung verschiedener Enteiweißungsmethoden, besonders mit kolloidalem Eisen, auch in Kombination mit Kaolin, außerdem bei Enteiweißung mit Asaprol sowie bei einfacher Verdünnung mit sehr verdünnter Essigsäure usw. sehr verschiedene Goldausflockung an verschiedenen Seren zeigte, und zwar meistens in dem Sinne, daß luetische Seren stärker ausflockten. Wir erhielten auf diese Weise ca. 70 % richtige Resultate im Vergleich zur Wassermannschen Reaktion. Immerhin geben diese Versuche eine Möglichkeit, das Studium der chemischen Veränderungen im luetischen Serum von dieser Seite in Angriff zu nehmen.

Die Lumbalflüssigkeiten wurden zuerst in der Weise untersucht, daß der Goldschutz des mit destilliertem Wasser verdünnten Liquors bestimmt wurde. Hierbei zeigten sich zwar beträchtliche Unterschiede, die aber keine Gesetzmäßigkeit in der Unterscheidung zwischen luetischen und normalen Zerebrospinalflüssigkeiten erkennen ließen, wir wollen daher auf diese Reaktion hier nicht weiter eingehen.

Anders verhielt es sich bei Verdünnung des Liquor mit Kochsalzlösung; hierbei ließen normale das Goldsol unverändert, während pathologische verschiedene Formen von Ausflockung zeigten.

Nachdem wir so einen Überblick über das Wesen der verwendeten Methode gegeben und auf die weiteren Untersuchungsmöglichkeiten in der uns beschäftigenden Frage hingewiesen haben, wollen wir uns zu der einen von diesen Reaktionen wenden, die wir an einer größeren Reihe von Zerebrospinalflüssigkeiten bis jetzt erprobt haben.

Nicht bluthaltiger Liquor wird mit 0,4 % steriler Kochsalzlösung auf $^1/_{10}$ verdünnt; zur Herstellung der Kochsalzlösung empfiehlt sich doppelt destilliertes Wasser, ist aber nicht unbedingt erforderlich. Man stellt dann eine Verdünnungsreihe her, indem man in eine Reihe von Röhrchen je 1 ccm der Kochsalzlösung gibt. In das erste Röhrchen gibt man 1 ccm Liquor $^1/_{10}$, in das zweite 1 ccm $^1/_{10}$ Liquor + 1 ccm NaCl, man erhält dann 2 ccm $^1/_{20}$ Liquor, nach Durchmischen gibt man 1 ccm in das dritte Röhrchen, in dem sich 1 ccm NaCl befindet, usw. Man erhält so eine Verdünnungsreihe 10 20 40 80 und setzt sie bis ca. 40000 fort. Ent-

hält nun jedes der Röhrchen 1 ccm des fortlaufend verdünnten Liquors, so gibt man 5 ccm Goldsol zu und schüttelt jedes Röhrchen sofort um; damit ist die Reaktion beendet.

Am besten läßt man die Röhrchen dann über Nacht im Zimmer stehen und liest am nächsten Tage das Resultat ab. Starke Ausflockungen lassen sich zwar sofort erkennen, aber zur endgültigen Einstellung sind doch mindestens einige Stunden nötig. Es ist darauf zu achten, daß die blauroten Verfärbungen selbst stärkeren Grades bei Lampenlicht nicht zu erkennen sind, nur wenn die Lösung bei sehr starken Reaktionen fast farblos wird, kann man dies auch bei künstlichem Licht erkennen.

Es stellt sich dabei heraus, daß normale Zerebrospinalflüssigkeiten, wenn ihnen kein Blut beigemischt ist, in jeder Verdünnung von $^1/_{10}$—$^1/_{40000}$ das Goldsol auch nach 24 Stunden vollkommen unverändert lassen; auf die Unterscheidung zwischen Blutbeimengung und anderen Stoffen werden wir später noch einzugehen haben.

Pathologische Zerebrospinalflüssigkeiten können das Goldsol ausflocken, d. h. es tritt eine Farbenveränderung von purpurrot über rotblau, blaurot, lila, dunkelblau, hellblau, weißblau ein, der höchste Grad der Ausflockung besteht darin, daß das Goldsol nach einiger Zeit wasserhell geworden ist und ein geringes blaues Sediment abgesetzt hat. Bemerkenswert bei dieser Ausflockung ist der Umstand, daß dieselbe in ihrer Stärke nicht der Konzentration des Liquor proportional ist, also nicht etwa bei der Verdünnung $^1/_{10}$ am stärksten ist und dann allmählich absinkt, sondern man findet ein Ausflockungsoptimum bei einer bestimmten Verdünnung z. B. bei $^1/_{40}$, von da geben sowohl stärkere als schwächere Konzentrationen schwächere oder gar keine Ausflockung.

Greifen wir z. B. eine starke Reaktion bei einer beginnenden Tabes heraus, so fiel die Reihe so aus, daß $^1/_{10}$ unverändert rot aussah, $^1/_{20}$ blaurot, $_{40}$ hellblau, $_{80}$ weiß, $_{160}$ blauweiß, $_{320}$ lila, $_{640}$ blaurot, $_{1280}$ rotblau, $_{2560}$ und die höheren Verdünnungen blieben rot. Hier lag also das Ausflockungsoptimum bei $_{80}$, und die Ausflockung hatte ihren höchsten Grad erreicht, das Goldsol war vollkommen farblos geworden, bei so starken Ausschlägen tritt übrigens der Farbumschlag sofort im Moment der Mischung ein. Hier muß daher noch auf einen Punkt der Technik aufmerksam gemacht werden; wenn wir uns vergegenwärtigen, daß bei der Verdünnung $_{40}$ ein Farbumschlag eintritt und bei der Verdünnung $_{320}$ z. B. nicht mehr, so muß man darauf achten, daß man das Goldsol zu dem verwendeten

Liquor möglichst schnell zugibt; gäbe man es portionsweise hinzu, so könnten Farbumschläge eintreten, die für die definitive Verdünnung nicht zutreffen. Groß sind natürlich die hierdurch möglicherweise bedingten Fehler nicht, immerhin ergibt sich aus dem Gesagten, daß man das Goldsol möglichst rasch mit dem Liquor mischen muß. Haben wir oben das Verhalten bei einer starken Reaktion gezeigt, so finden sich davon absteigend alle denkbaren Unterschiede, die schwächsten Reaktionen, die wir vorläufig noch als zweifelhaft (±) bezeichnen, sind so, daß in den Verdünnungen $_{40}$ und $_{80}$ eine eben angedeutete rotblaue Verfärbung zu konstatieren ist; bei negativen Reaktionen zeigt sich, wie schon erwähnt, in der ganzen Verdünnungsreihe keine Veränderung der purpurroten Farbe des Goldsol.

Nehmen wir extreme Fälle, so zeigen sich ganz kolossale Ausschläge; die stärksten Reaktionen sieht man bei Fällen von schwerer Hirnlues, Tabes und Paralyse, im ganzen also hauptsächlich bei Fällen, die auch im Liquor eine positive Wassermannsche Reaktion zeigen. Fraglich nach unseren bisherigen Erfahrungen erscheint uns nur noch, wo zuerst die Grenze für eine positive Reaktion angesetzt werden soll und wie weit man feinste Ausschläge klinisch verwerten darf.

Vorwegnehmen möchten wir gleich, daß die Reaktion nicht bei jedem Luetiker im Liquor zu finden ist; wir haben aus den verschiedensten Stadien manifester und latenter Lues Fälle zur Untersuchung bekommen, die vollkommen negativ reagierten. Wenn es nun auch nach unseren bis jetzt noch nicht zureichenden Untersuchungen fraglich erscheint, ob normale Zerebrospinalflüssigkeiten jemals eine positive Reaktion schwächsten Grades geben können, so steht für uns heute doch schon absolut fest, daß stärkere Reaktionen eine sicher pathologische Bedeutung besitzen, auch glauben wir ganz bestimmt, daß die Reaktion nicht durch eine anderweitig lokalisierte Lues bedingt werden kann, sondern immer auf eine Lokalisation im oder am Zentralnervensystem zu beziehen ist, nur muß man sich mit der Vorstellung vertraut machen, daß luetische Affektionen des Zentralnervensystems ungeheuer viel häufiger sind auch in den frühesten Stadien der Lues, als man bisher annahm, und daß diese Affektionen sich selbst in recht vorgeschrittenen Stadien nur durch eine Untersuchung des Liquor nachweisen lassen, während noch zu dieser Zeit die neurologischen Untersuchungsmethoden meist vollkommen versagen. Um Mißverständnissen vor-

zubeugen, erwähnen wir gleich, daß sich uns diese Vorstellung nicht erst auf Grund der Untersuchungen mit der Goldmethode gebildet hat, sondern daß zu diesem Zwecke meist Cytodiagnostik und Phase I vollkommen ausreichen.

Was den Punkt betrifft, daß wir glauben, die im Liquor zu findenden chemischen Veränderungen deuten stets auf eine lokale Affektion hin, so müssen wir hier auf einige Verhältnisse kurz hinweisen, die noch keineswegs geklärt und wohl auch weniger allgemein bekannt sind. Durch die wenigen bekannten Tatsachen wird man zu der Vorstellung gedrängt, daß das Blut und die Zerebrospinalflüssigkeit keineswegs im einfachen Verhältnis der Diffusion zueinander stehen, sondern das Ependym der Chloroidealplexus und die Arachnoidalzotten scheinen eine sekretorische Funktion ähnlich dem Nierenepithel zu besitzen. Von den Gallenfarbstoffen bei Ikterus wird angegeben, daß sie nicht in den Liquor gelangen, auffällig ist auch, daß bei tuberkulöser Meningitis kein Jodkali in den Liquor gelangen soll. Auch für das Salvarsan scheinen die Verhältnisse so zu liegen, es ist wahrscheinlich, daß es überhaupt nicht in den Liquor gelangt, was nach den bisherigen Untersuchungen noch nicht einwandfrei festgestellt ist, sicher ist zum mindesten, daß es im Liquor im Vergleich zu den gleichzeitig im Blute kreisenden Mengen höchstens spurenweise vorkommen kann[1]). Im Anschluß hieran ist auch vielleicht die Tatsache verständlich, daß nach spezifischer Behandlung eine positive Wassermannsche Reaktion im Serum negativ werden kann, während sie im Liquor positiv bleibt, oder gar erst positiv wird. Diese Tatsachen, die allerdings noch nicht genügend zahlreich vorliegen, machen es wahrscheinlich, daß auch die für die Wassermannsche Reaktion maßgebenden Körper nicht einfach in den Liquor gelangen, wenn sie im Serum ein bestimmtes Verhältnis überschreiten, sondern ihr Vorkommen im Liquor ist durch lokale Verhältnisse bedingt, sei es nun, daß sie an Ort und Stelle gebildet werden, oder daß sie unter bestimmten Verhältnissen nur das geschädigte Filter passieren können. Diese ganzen Verhältnisse sind wie gesagt noch wenig oder gar nicht geklärt, doch sind sie von großer Wichtigkeit für die Therapie; bei der großen Mehrzahl der in Frage kommenden Fälle scheint es sich, was auch pathologisch-anatomisch festgestellt

[1]) Anm. während der Drucklegung: Inzwischen konnten wir Gallenfarbstoff im Liquor bei Ikterus nachweisen. Auch Arsen findet sich darin nach Salvarsaninjektion.

ist, um basale Meningitiden zu handeln, die zum mindesten in einem Teil der Fälle die Vorläufer metasyphilitischer Erkrankungen, von Optikus- und Akustikusschädigungen sein können, dies ist diagnostisch und prognostisch von großer Wichtigkeit, mindestens ebenso wichtig ist aber, ob die spezifischen Mittel überhaupt wirkungsvoll mit den pathologischen Produkten in Berührung kommen, oder auch gar mit den im Liquor sich aufhaltenden Spirochäten. Diese ganzen Verhältnisse bedürfen noch eingehender Untersuchung.

Um nun auf den wichtigen Punkt der zweifelhaften schwach positiven Goldreaktion zurückzukommen, so ist zu bemerken, daß diese Reaktionen wohl meistens auf eine Verunreinigung des Goldsols oder auf eine Verunreinigung des Liquor z. B. durch Blutbeimengung zurückzuführen sind und daß bei Ausschaltung dieser Momente auch schwächste Reaktionen gerechnet werden können. Eine Verunreinigung des Goldsols kann z. B. durch Verwendung eines einzigen nicht tadellos gereinigten Reagensgläschens bedingt sein, diese Möglichkeit läßt sich aber meist daran erkennen, daß ein Farbumschlag sprunghaft in der Verdünnungsreihe an bestimmter Stelle auftritt, während sonst stets bei der vorgeschlagenen Verdünnungsreihe ganz allmähliche Übergänge zu konstatieren sind, außerdem läßt sich diese Fehlermöglichkeit durch doppeltes Ansetzen der Reaktion vollkommen ausschalten. Eine Fehlermöglichkeit liegt aber auch in der nicht ganz tadellos purpurroten Farbe des Goldsols. Es werden in der Richtung angestellte Untersuchungen sicher noch klareren Einblick in die vorliegenden Verhältnisse geben und die Herstellung guten Goldsols noch mehr erleichtern. Jedenfalls ist auf den Unterschied zwischen hochroten Goldsolen und solchen mit ganz leichter blauer Nuance zu achten, daß normale Liquoren mit dem blaugefärbten schwach positiv reagieren können, während sie hochrotes Goldsol vollkommen unverändert lassen. Immerhin sind die dadurch bedingten Ausflockungen gering und erreichen niemals stärkere Grade, trotzdem leidet die Feinheit der Reaktion hierunter merklich, bei Verwendung nur ganz hochroter Lösungen läßt sich dies sicher vermeiden. Im gleichen Sinne ist auch die Konzentration des Goldsols von Wichtigkeit; Zsigmondy gibt für die Herstellung des Goldsols an, daß man auf 125 ccm Wasser 2,5 ccm 6‰ Goldchlorid und 3—3,5 ccm 0,18 n Kaliumkarbonat nehmen soll, dies entspricht 1,5 ccm 1% Goldchlorid und 1 ccm über 4% Kaliumkarbonat im Höchstfalle. Man kann aber auch stärker konzentrierte Goldsole herstellen, z. B. bis zu einem

Gehalt von 0,5 $^0/_{00}$ Goldchlorid, geht man noch höher, also z. B. bis zu einer Ausgangsverdünnung von 1 $^0/_{00}$ Goldchlorid, so fällt das bei der Reduktion durch Formalin entstehende metallische Gold sofort aus, weil der zulässige Prozentgehalt an Salzen, die bei der Reaktion entstehen, bereits überschritten ist. Dieser Punkt ist bei derartigen Untersuchungen besonders zu berücksichtigen, daß man es nämlich bei der gewöhnlichen Herstellungsweise nicht mit reinem kolloidalem Gold zu tun hat, sondern daß ihm Salze beigemengt sind, die bei einer bestimmten Konzentration das Gold ausflocken. Jedenfalls kann man auf die bekannte Weise nur Goldsole bis zu einer bestimmten Konzentration herstellen. Anders verhält es sich, wenn man aus einem hochroten Goldsol die Salze durch Dialyse entfernt; das Goldsol kann durch Kochen eingeengt werden und auf viel stärkere Konzentrationen gebracht werden, ohne daß die hochrote Farbe irgendwie beeinträchtigt wird. Bis jetzt schien es uns nicht nötig, die Herstellungsweise noch durch Dialyse zu komplizieren, da wir auf die oben geschilderte Weise bereits eine brauchbare klinische Untersuchungsmethode erzielten, immerhin ist der Punkt von großer Bedeutung, daß dem Goldsol noch Neutralsalz beigemengt ist, das auf die Lösungsverhältnisse der bei der Reaktion in Frage kommenden Körper einen entscheidenden Einfluß haben kann; wir erinnern daran, daß z. B. die mit destilliertem Wasser verdünnte Zerebrospinalflüssigkeit Goldschutz zeigte, während die Verdünnung mit Kochsalz Ausflockung ergab. Bisher haben wir bei unseren Versuchen noch kein dialysiertes Goldsol verwendet, bei dessen Verwendung übrigens auch andere Resultate zu erwarten sind. Wie weit nämlich der Salzgehalt bei der Reaktion mitspielt, kann man daraus ersehen, daß normale Lumbalflüssigkeiten, die bei Verdünnung mit 0,4 % NaCl in keiner Konzentration Ausflockung zeigen, diese Reaktion aber bei Verdünnung mit 0,8 % NaCl geben, allerdings schwächer als die pathologischen, die Unterschiede schienen uns aber bei Verwendung 0,4 % Kochsalzlösung deutlicher zu sein, auch tritt das Resultat besser in Erscheinung, insofern normale vollkommen negativ reagieren; wir wollten hierauf aus praktischen Gründen hinweisen, um zu zeigen, wie dies negative Resultat aufzufassen ist, d. h. es handelt sich auch bei dieser Reaktion wahrscheinlich nur um quantitative Unterschiede, ohne daß damit ohne weiteres die Anwesenheit normalerweise nicht vorkommender Körper nachgewiesen wäre.

Ähnliche, nur noch stärkere Unterschiede treten auch bei Ver-

wendung verschieden konzentrierter Goldsole auf; die Farbunterschiede sind bei C,5‰ Goldsol (0,5‰ Goldchlorid) viel stärker als bei 0,1‰, doch haben wir bisher noch kein dialysiertes Goldsol angewendet, so daß es fraglich bleibt, ob die Unterschiede mehr durch den differenten Salzgehalt oder durch die Konzentration des Goldsols bedingt sind; diese Verhältnisse bedürfen noch einer genaueren Untersuchung.

Bisher verwendeten wir für die klinische Untersuchungsmethode nur 1‰ Goldsol, also eine schwächere Konzentration, als Zsigmondy sie angibt, trotzdem erhalten wir durch eine geringfügige Veränderung eine beinahe noch schönere rote Farbe als nach der Originalvorschrift.

In Anbetracht der Bedeutung des Salzgehalts auf den Ausfall der Reaktion versuchten wir nämlich, die Menge der verwendeten Pottasche möglichst herabzusetzen. Dabei stellte sich nun — wenigstens bei den Merckschen Präparaten — heraus, daß man bei Verwendung geringerer Mengen Pottasche noch schönere Goldlösungen erzielt.

Die Vorschrift zur Herstellung des Goldsols, auf die sich unsere klinischen Untersuchungen beziehen, lautet demnach: auf 100 ccm doppelt destilliertes Wasser gibt man 1 ccm 1% Goldchlorid und 1 ccm 2% Pottasche, darauf wird schnell aufgekocht und 1 ccm 1% käufliches Formol hinzugegeben. Man findet Angaben, daß sich kleinere Mengen leichter herstellen lassen, wir stellen aber bei Benutzung der angegebenen Vorschriften und mit Jenenser Bechergläsern gleich 1000 ccm auf einmal dar, nachdem wir uns zuvor an einer Probe mit 100 ccm versichert haben, daß das destillierte Wasser, Chemikalien und Gläser geeignet sind.

Bei Verwendung derartiger Goldlösungen haben wir fast niemals eine Ausflockung bei normalen Zerebrospinalflüssigkeiten gesehen, vorausgesetzt, daß keine Blutbeimengungen vorhanden sind.

Es ist hier angebracht, einige Vorsichtsmaßregeln zu erwähnen, die bei der Entnahme des Liquor unerläßlich sind. Selbstverständlich überzeuge man sich vorher, daß der Liquor in peinlichst sauberen Reagenzgläsern aufgefangen wird, aber auch die Sterilisierung der Nadel muß auf besondere Weise erfolgen. Meistens werden ja die Punktionsnadeln in Sodalösung ausgekocht und dann höchstens noch mit Kochsalzlösung durchgespritzt; mit derartig zubereiteten Kanülen kann man aber kein einwandfrei reines Lumbalpunktat gewinnen. Auf unserer Abteilung werden die Nadeln

jedesmal nach Gebrauch mit Kochsalzlösung, Alkohol und Äther reichlich durchgespritzt und dann in einem mit Wattebausch verschlossenen Reagenzglase im Trockensterilisator sterilisiert, sie sind dann stets gebrauchsfertig und können vor allen Dingen nicht rosten, was auch zu sehr lästigen Verunreinigungen führt. Außerdem muß besonders auch bei Druckbestimmungen auf Verunreinigung geachtet werden, besonders sind möglichst kleine Gummiverbindungen zu verwenden, da die Gummischläuche in keiner Weise absolut rein zu erhalten sind, bis jetzt lassen sie sich aber kaum ganz vermeiden. Die zur Druckbestimmung verwendeten Glasröhren werden wie unten bei Pipetten angegeben gereinigt und trocken sterilisiert.

Besondere Vorsichtsmaßregeln erfordern auch die nicht immer zu vermeidenden Blutbeimengungen, die bei den chemischen Reaktionen sehr stören; bei stärkerer Blutbeimengung ist die Punktion, wenn sie zu diagnostischen Zwecken unternommen wird, sofort zu unterbrechen, da stark bluthaltige Punktate weder zur Wassermannschen Reaktion, noch zur Phase I, noch zur Goldreaktion zu gebrauchen sind, höchstens käme noch die Cystodiagnostik in Frage, wenn es sich um ausgesprochene Fälle handelt. Bei geringen Blutbeimengungen fängt man das Punktat in einzelnen Portionen auf, die erste Portion verwenden wir dann zur Wassermannschen Reaktion, die letzten Tropfen für die Goldreaktion.

Die Blutbeimengungen üben nicht nur auf die Phase I, sondern auch auf die Goldreaktion einen Einfluß aus, den wir gleich besprechen wollen, da dies das Verständnis der später zu erörternden Verhältnisse erleichtert. Bei der Phase I sind Blutbeimengungen deshalb so lästig, weil sie die ganze Reaktion unbrauchbar machen können. Man hat ja einen gewissen Maßstab für die Größe der Verunreinigung in der Anzahl der roten Blutkörperchen im Sediment, immerhin kommt das nur für ganz grobe Ausschläge in Frage, z. B. wenn man nach 3 Minuten eine starke Trübung findet bei einer geringen Anzahl von Erythrocyten, kann man die Reaktion sicher als positiv bezeichnen, aber schwache Flockenbildung nach 24 Stunden oder eben sichtbare Opaleszenz bei 3 Minuten können nicht berücksichtigt werden, wenn man mikroskopische Erythrocyten nachweisen kann, geschweige denn, wenn man schon makroskopisch nach Zentrifugieren ein Sediment von roten Blutkörperchen erkennen kann. Wir glauben auch, daß normale Zerebrospinalflüssigkeiten auch nach 24 Stunden bei Halbsättigung mit Ammon-

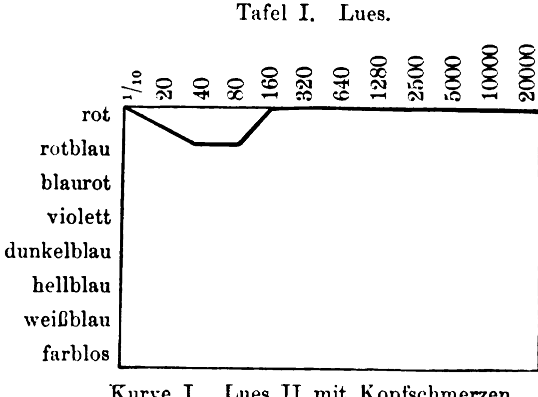
sulfat keine noch so geringe Trübung erkennen lassen, falls sie nicht mit Blutbeimengungen verunreinigt sind.

In dieser Hinsicht scheint die Goldmethode ganz besondere Vorzüge zu haben, indem es nämlich mit ihrer Hilfe gelingt, Blutbeimengungen, also Bestandteile des Blutserum, von pathologischen Liquorbestandteilen in manchen Fällen einwandfrei zu differenzieren; diese Art der Differenzierung scheint auch für die Unterscheidung ätiologisch verschiedener Krankheitsbilder verwertbar zu sein, wo die Phase I keine Unterschiede erkonnen läßt.

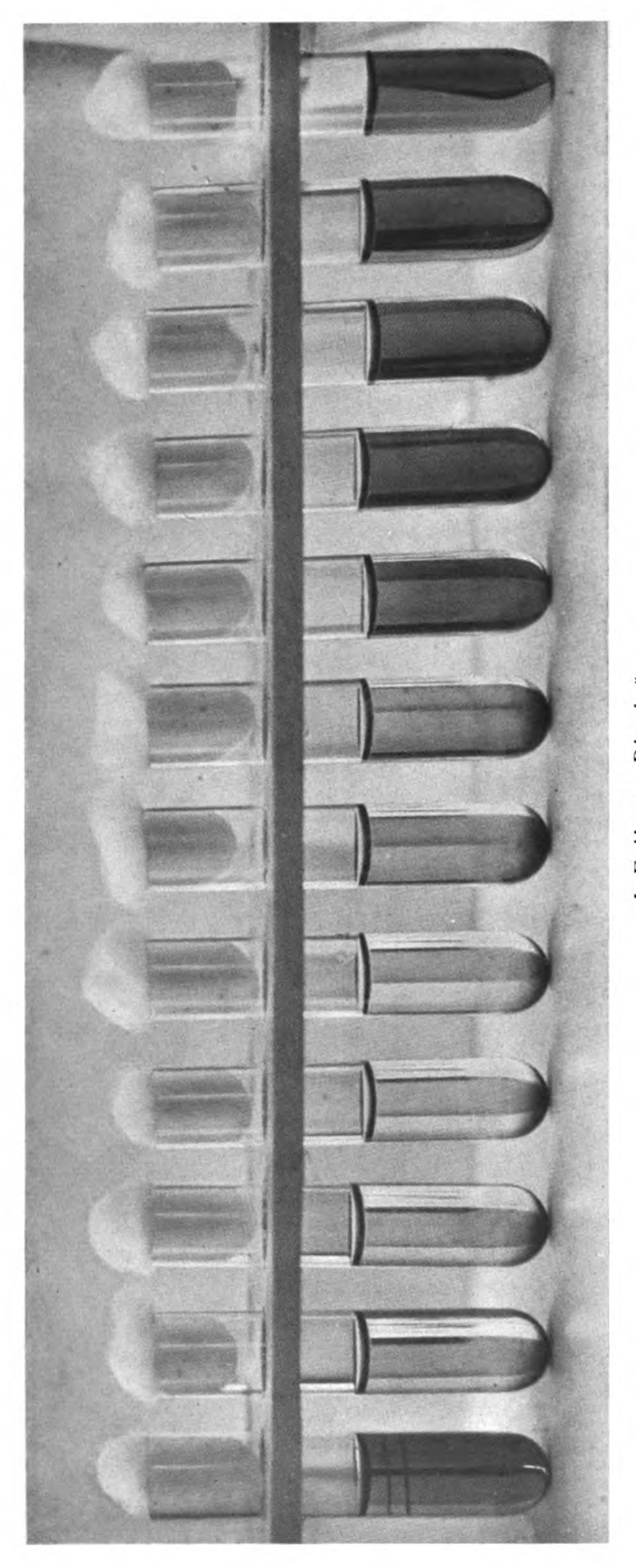
In dieser Richtung ist eins wesentlich, nämlich der Punkt der Verdünnungsreihe, auf den das Maximum der Ausflockung fällt. Wir geben hier 3 Kurven von Luetischen mit verschiedenen Graden der Reaktionsstärke.

Die graphische Darstellung geschieht so, daß man auf der Abszisse die verschiedenen Verdünnungen des Liquor mit 0,4 % Kochsalzlösung, auf der Koordinate die verschiedenen Abstufungen der Farbskala von rot über blau bis weiß einträgt. Kurve I stammt von einem Luetiker im Sekundärstadium mit Kopfschmerzen; in den Verdünnungen $_{40}$ und $_{80}$ sieht man eine rotblaue Verfärbung. II stammt von einem Tabiker, III von einem Paralytiker. Das Charakteristische dieser Kurven liegt darin, daß das Ausflockungsmaximum immer bei $_{40}$ oder $_{80}$ liegt; bei kürzeren Kurven bei $_{40}$, bei stärkeren Ausflockungen, die sich über eine größere Reihe von Verdünnungen hinziehen, bei $_{80}$, bei ganz starken Reaktionen kann auch $_{40}$, $_{80}$ und $_{160}$ gleich sein, dann ist aber immer auch schon bei $_{10}$ das Goldsol blau verfärbt.

Tafel I. Lues.



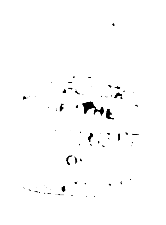
Kurve I. Lues II mit Kopfschmerzen.
Siehe Tafel III der farbigen Wiedergaben.

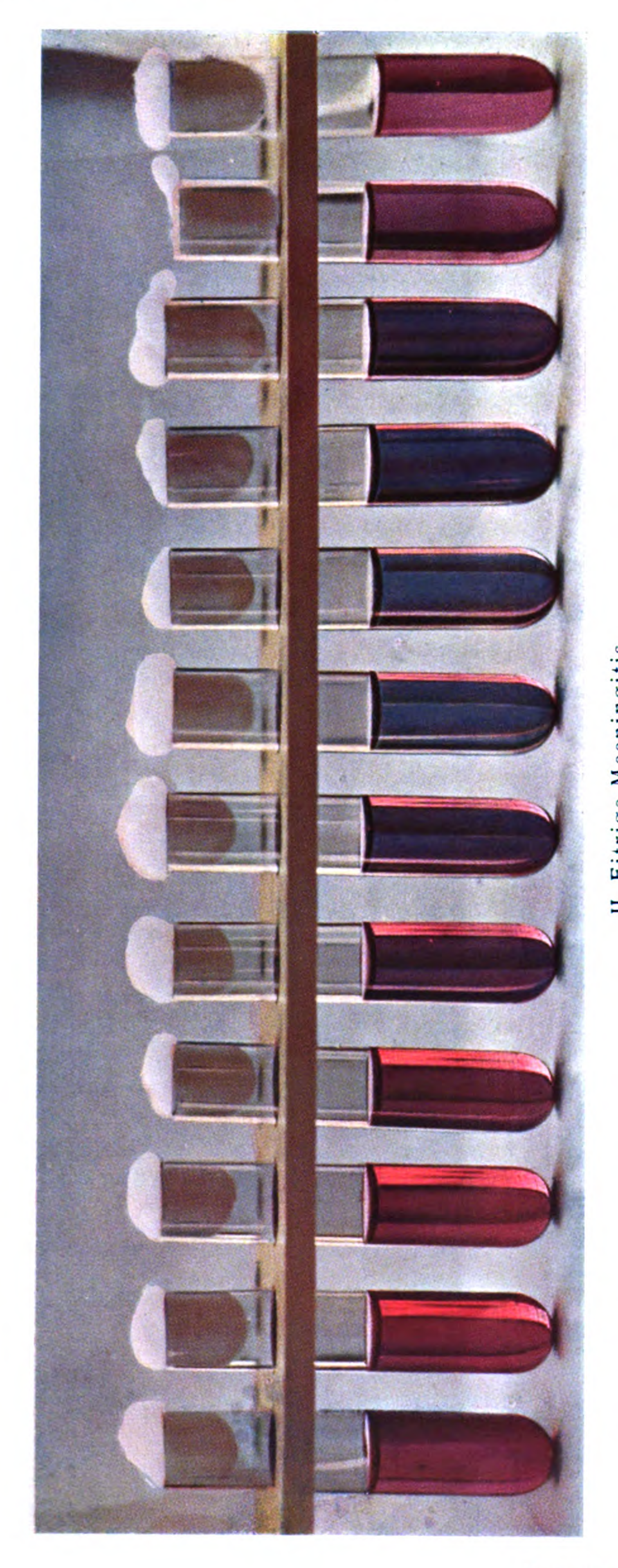


I. Fall von Biruluïs.

Man sieht deutlich die Kurve, deren Maximum am Anfang der Verdünnungsreihe liegt. Links $^1/_{10}$, rechts $^1/_{20\,000}$.

Lange, Berlin. Verlag von Georg Thieme, Leipzig.

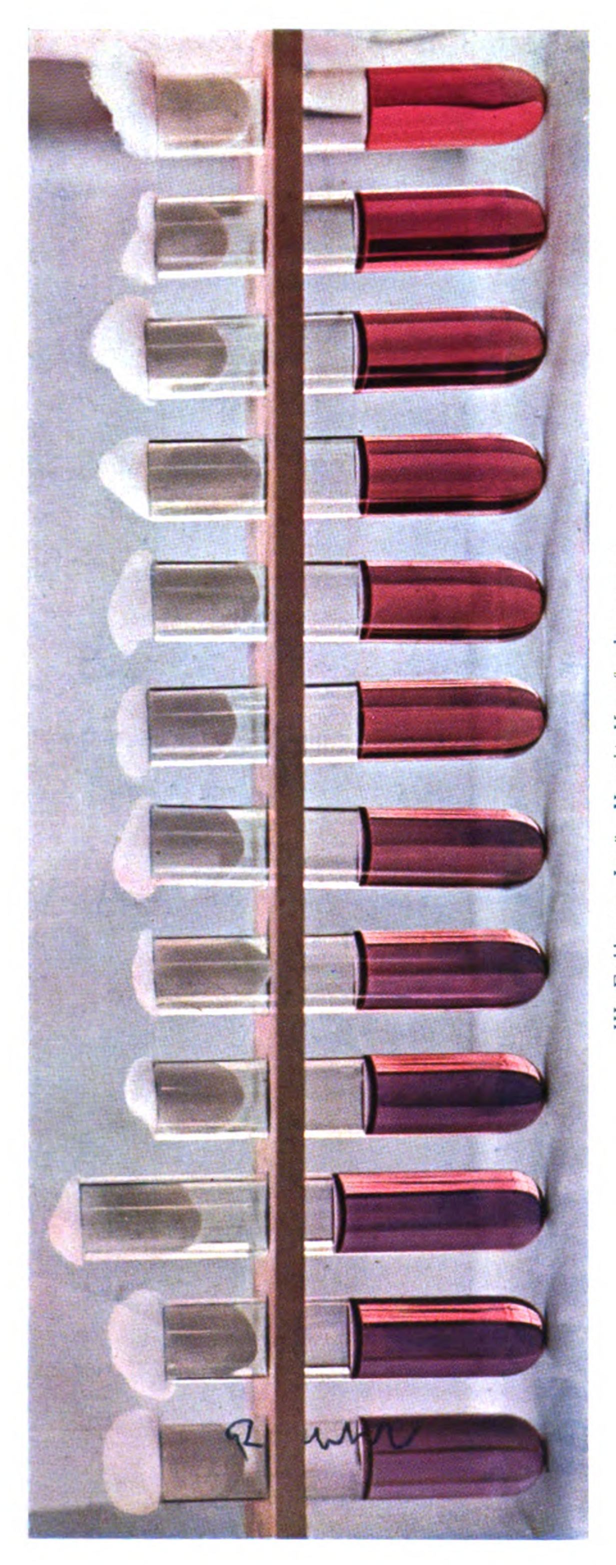




II. Eitrige Meeningitis.
Sehr deutliche und starke Verschiebung nach rechts, die ersten Röhrchen sind unverändert. Maximum ca. bei 2500 und 5000.

Lange, Berlin. Verlag von Georg Thieme, Leipzig.



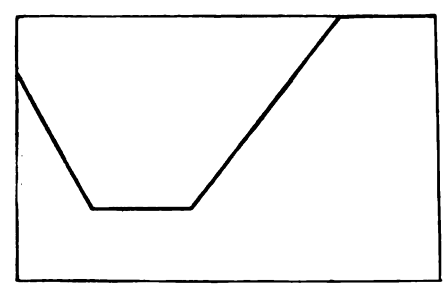


III. Fall von Luës II mit Kopfschmerzen.
In der farbigen Wiedergabe kommt die Kurve nicht zum Ausdruck wie bei I und II. Maximum bei 40 und 80.

Lange, Berlin. Verlag von Georg Thieme, Leipzig.

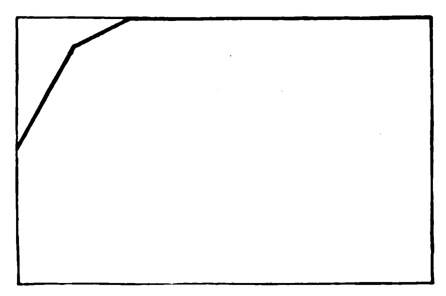
Ganz anders verhalten sich die Kurven, wenn Serumbestandteile dem Liquor beigemengt sind, wie aus den Kurven der Tafel II hervorgeht.

Kurve I der Tabelle II ist so gewonnen, daß zu einem Liquor, der in keiner Verdünnung Goldsol ausflockte, eine geringe Menge Serum hinzugesetzt wurde. Das Goldsol blieb von $_{10}$ bis $_{640}$ vollkommen unverändert, bei $_{1280}$ zeigte sich eine blaurote Verfärbung, das Maximum der Ausflockung lag bei $_{2500}$ mit dunkellila, $_{5000}$ war



Tafel I. Kurve II. Tabes.

blaurot, $_{10000}$ und $_{20000}$ vollkommen unverändert. Während Kurve I den Einfluß von Serumbeimengung zu einem gänzlich negativen Liquor zeigt, zeigen Kurve II und III die durch Blutbeimengung bedingten Unterschiede bei einer positiven Reaktion von mittlerer Stärke. Hier wurde kein Serum zum Liquor zugesetzt, sondern Kurve III bedeutet die erste etwas bluthaltige Portion eines Lumbalpunktats, II die letzte Portion, in der keine Erythrocyten mehr

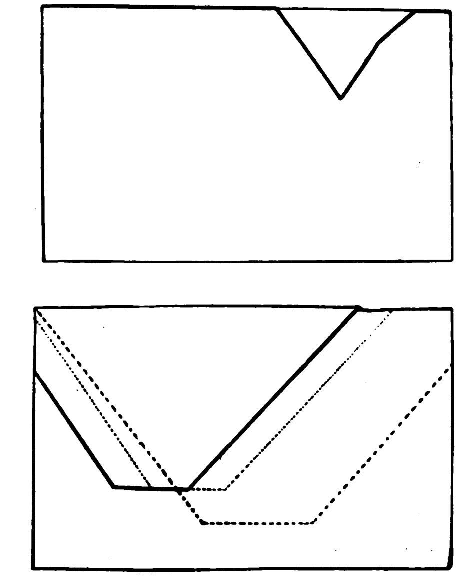


Tafel I. Kurve III. Paralyse.

zu finden waren. II ist eine typische Lueskurve, III ist etwas nach rechts verschoben, aber immer noch charakteristisch im Vergleich zu anderen Erkrankungen, bei IV ist durch nachträgliche Serum-

zugabe das Maximum noch weiter nach rechts verschoben; trotzdem ist zu beachten, daß eine solche Kurve durch Blutbeimengung zu einem normalen Liquor nicht zu erzielen ist. Von anderen Erkrankungen des Zentralnervensystems mit positiver Phase I möchten wir noch einige Fälle von Hirntumoren und eitrigen Meningitiden anführen.

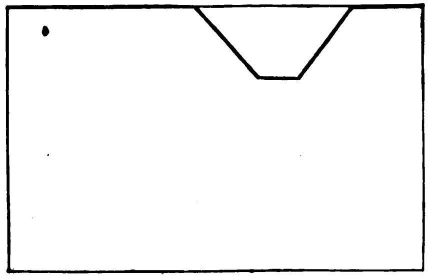
Tafel II. Blutbeimengung.
Kurve A. Blutbeimengung bei sonst normalem Liqnor.



Kurve II — typische Lues, ... mit geringer,
- - - mit stärkerer Blutbeimengung.

Ein Rückenmarks- und zwei Hirntumoren ergaben positive Goldausflockung bei positiver Phase I.

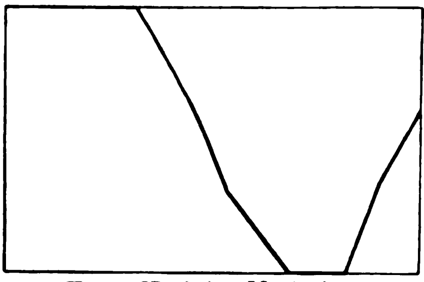
Tafel III. Hirntumor, eitrige Meningitis.



Kurve I. Hirntumor.

Wie die Kurven zeigen, liegen die Ausflockungsmaxima sämtlich höher wie bei Luetikern, Blutbeimengungen waren bei diesen Fällen nicht zu konstatieren. Der Fall mit Kurve III zeigte insofern eine eigentümliche Kurvenveränderung nach Serumzugabe, als die Kurve wenig nach rechts verschoben und in der Ausflockungsstärke sogar abgeschwächt wurde.

Die stärksten Abweichungen von der typischen Lueskurve zeigten einige Fälle von eitriger Meningitis mit stark positiver Goldausflockung.



Kurve II eitrige Meningitis.

Man sieht bei beiden Kurven, daß sie erst in sehr starker Verdünnung Goldausflockung zeigen; Kurve I stammt von einer letal verlaufenen Streptokokkenmeningitis mit stark eitrigem Liquor, hier ist bei Verdünnung $^1/_{20\,000}$ noch immer eine deutliche Ausflockung zu sehen. Die in der Tabelle gezeigten Meningitiskurven sind ausgesprochene Fälle, die einen nicht zu verkennenden Unterschied gegenüber Lueskurven zeigen, doch muß hier erwähnt werden, daß wir auch bei 2 Fällen von beginnender Meningitis ± Reaktionen fanden, die ± Reaktionen bei Lues vollkommen entsprachen, d. h. leicht rotblaue Verfärbung bei $_{40}$ und $_{80}$.

Zu einem abschließenden Urteil in dieser Frage konnten wir natürlich bis jetzt nicht gelangen, da unser Material fast ausschließlich aus Luetikern oder Patienten ohne Erkrankung des Zentralnervensystems bestand. Immerhin ist bemerkenswert, daß von luetischen und metaluetischen Erkrankungen die Kurven ohne Ausnahme das typische Maximum erkennen ließen und niemals solche Kurven wie bei den eben dargestellten Tumoren und eitrigen Meningitiden sich fanden. Rein zufällige Verhältnisse halten wir für vollkommen ausgeschlossen, besonders die stärkeren Reaktionen

betreffend, nur fragt sich, welchen Wert man derartigen Differenzen bei weniger ausgeprägten Kurven beilegen kann; hierüber sind noch weitere Erfahrungen zu sammeln. Daß diese Verschiebung der Kurven nach rechts nur durch den bei eitrigen Meningitiden vorhandenen stärkeren Eiweißgehalt bedingt sein sollte, scheint uns nach unseren Versuchen mit Serumbeimengung zum Liquor unwahrscheinlich, es müssen diese Differenzen mindestens teilweise auch durch qualitative chemische Unterschiede bedingt sein.

Nachdem wir die qualitativen Differenzen besprochen haben, die sich schon bei Anwendung der einen genauer untersuchten Reaktion auf die Untersuchung des Liquor zeigten, wollen wir wenigstens noch die verschiedenen anderen Variationen der Goldmethode aufzählen, mit denen sich Unterschiede zwischen verschiedenen Zerebrospinalflüssigkeiten feststellen lassen, doch wollen wir gleich bemerken, daß es uns bisher unmöglich war, alle diese Verhältnisse genau durchzuuntersuchen, so daß wir uns über eventuelle klinische Brauchbarkeit der jetzt angeführten Versuche kein Urteil erlauben. Die hier angeführten Versuche beziehen sich übrigens ausschließlich auf luetische und metaluetische Erkrankungen.

Es fiel uns auf, daß bei einigen Fällen mit stark positiver Goldreaktion die Goldausflockung auch bei Verdünnung mit destilliertem Wasser auftrat, wenn auch in schwächerem Grade, anderseits zeigen stark positive Lumbalflüssigkeiten bei Verdünnung mit 0,4 % NaCl. auch nach Aufkochen noch Ausflockung, während schwächer reagierende Lumbalflüssigkeiten nach Aufkochen keine Ausflockung mehr geben. Bei Zusatz von stark verdünnter Essigsäure zu den mit Kochsalz verdünnten Lumbalflüssigkeiten tritt eine Verstärkung der Reaktion ein, so daß auch negative schwache Ausflockung ergeben. Umgekehrt verschwindet die Goldausflockung bei Zusatz von wenig Alkali ganz und statt dessen beobachtet man sehr verschiedenen Goldschutz. Lumbalflüssigkeiten zeigen nach Kochen, und Kochen + Essigsäurezusatz nach Goldschutz, nach Enteiweißen, mit Asaprol in Kochsalzlösung tritt Goldausflockung auf, die bei der Versuchsanordnung nicht auf die zugefügte Asaprollösung bezogen werden konnte. Verdünnt man Liquor auf $^1/_{10}$ mit absolutem Alkohol und zentrifugiert, so zeigt die alkoholische Lösung Goldschutz, während das in Kochsalz oder Kochsalz + Soda gelöste Sediment Ausflockung zeigt, die

auch nach Kochen nicht verschwindet. Das durch Dialysieren stark eiweißhaltiger Lumbalflüssigkeiten erhaltene Sediment zeigt nach Auflösung starke Ausflockung, die nach Kochen unverändert bleibt und nach Kochen + Essigsäurezusatz sogar noch beträchtlich verstärkt wird.

Von diesen Versuchen müssen wir einen noch kurz betrachten, der die alkoholischen Substanzen im Liquor betrifft. Daß die mit Alkohol verdünnten Lumbalflüssigkeiten nach Abzentrifugieren des entstandenen Sediments und bei Anlegung einer Verdünnungsreihe mit absolutem Alkohol Goldschutz zeigen, beweist die Anwesenheit eines alkohollöslichen Körpers, der auch in Wasser löslich ist, denn nach Zufügen der 5 ccm wäßrigen Goldkolloids (Goldhydrosol), müßten Körper, die nur in Alkohol und nicht in Wasser löslich sind, ausfallen und kämen danach für die Reaktion nicht mehr in Frage. Eventuell sind diese Verhältnisse durch Seifen bedingt. Um lediglich alkohollösliche Substanzen auch mit Goldsol untersuchen zu können, versuchten wir ihre Einwirkung auf Goldalkosol. Eine Reduktion des Goldchlorids nach der gewöhnlichen Methode mit Alkohol statt Wasser war nicht möglich, da blaue Lösungen entstanden, die das reduzierte Gold in kürzester Zeit absetzten. Dagegen vermochten wir, ein Goldhydrosol durch Dialyse gegen häufig gewechselten absoluten Alkohol in ein Alkosol umzuwandeln, es resultieren jedoch meist keine schönroten Lösungen, die keine einwandfreien Resultate erkennen ließen.

Nach dem kurz Angedeuteten sieht man, daß es leicht ist, mit der Goldmethode eine große Anzahl von Reaktionen auszuführen, die größtenteils auf verschiedene Körper zu beziehen sind und wesentliche Differenzen zwischen verschiedenen Lumbalflüssigkeiten erkennen lassen. Ein Vorteil ist außerdem, daß man zu all diesen Reaktionen nur minimale Quanten benötigt, so daß man sehr gut eine Reihe der eben skizzierten Reaktionen ausführen könnte, falls die Differenzen sich als klinisch verwertbar erweisen sollten.

Uns liegt es vollkommen fern, aus den wenigen Untersuchungen, die wir bisher in dieser Richtung anstellten, irgendwelche Schlüsse ziehen zu wollen, nur soviel halten wir schon jetzt für sicher, daß der Goldausflockung durch kochsalzverdünnte Lumbalflüssigkeiten eine pathologische Bedeutung beizumessen ist.

Gilt uns nun auch die klinische Brauchbarkeit dieser Reaktion

für sichergestellt, so ist vor allen Dingen die Frage zu entscheiden, wie sie sich zu den anderen Untersuchungsmethoden verhält, besonders zur Phase I, mit der sie im Ausfall am meisten Ähnlichkeit hat, daneben dann auch zur Cytodiagnostik und der Wassermannschen Reaktion im Liquor.

Die Cytodiagnostik, besonders in der Form der Differenzialzählung der Zellformen nach Methylgrün-Pyroninfärbung ist unserer Ansicht nach die feinste Untersuchungsmethode im Liquor bei Luetischen, doch verfügen wir auch über einzelne Fälle, wo sich die Goldreaktion als noch feiner erwies. Bezüglich der Wassermannschen Reaktion im Liquor ist zu sagen, daß ihr Wert nicht in der Feinheit der Ausschläge zu suchen ist, denn die große Mehrzahl der leichteren luetischen Affektionen des Zentralnervensystems zeigt keine positive Reaktion im Liquor, und auch bei diesen Fällen ist man wohl immer in der Lage, mit den anderen Untersuchungsmethoden die Diagnose zu stellen. Dem positiven Ausfall der Wassermannschen Reaktion kommt ja dann auch diagnostisch eine größere Bedeutung zu, falls das Serum negativ reagiert, was besonders nach spezifischen Kuren keineswegs selten scheint, anderseits scheint ihm aber hauptsächlich eine große prognostische Bedeutung zuzukommen, abgesehen von schweren Fällen von Hirnlues oder Optikus- und Akustikus-Schädigungen handelt es sich meist um Tabes oder Paralyse, also im allgemeinen um irreparable Schädigungen, die leichteren Fälle mit negativer Reaktion betreffen wohl hauptsächlich luetische basale Meningitiden, die allerdings wohl in die erste Kategorie übergehen können. Wo nun die Wassermannsche Reaktion im Liquor positiv ausfiel, da zeigten sich auch stets die stärksten Grade der Goldreaktion, im allgemeinen läßt sich also sagen, daß die Goldreaktion der Wassermannschen Reaktion im Liquor wenigstens quantitativ überlegen ist, was allerdings von der Phase I und der Cytodiagnostik auch gilt. Der besondere Wert der Wassermannschen Reaktion liegt in dem absolut spezifischen Charakter der Reaktion, während die Goldreaktion und differentielle Cytodiagnostik nur bedingt spezifisch genannt werden können, die Phase I für sich allein ganz unspezifisch ist. Es gibt nun allerdings eine falsche Vorstellung, die verschiedenen Reaktionen gegeneinander abzuwägen, Wert hat vor allen Dingen die Gesamtheit der mit allen zugänglichen Methoden gewonnenen Untersuchungsresultate, und da

sind wir bei der Untersuchung luetischen Liquors noch besser gestellt als bei der Serumuntersuchung.

Was nun das Verhältnis der Goldreaktion zur Phase I betrifft, so findet man bei Luetikern meist eine Parallelität der Reaktionen, nur scheint es uns, als ob die Goldreaktion auch quantitativ feiner ist, da sie manchmal bei leichteren Fällen besonders in den frühesten Stadien der Lues deutliche Ausschläge gibt, wo selbst nach 24 Stunden Ammonsulfat nicht die geringste Flockenbildung ergab. Die feinsten Trübungen bei Phase I lassen sich außerdem viel schwerer erkennen als die unverkennbaren Farbveränderungen des Goldsols. Auf die qualitativen Unterschiede der Goldreaktion, die mit Ammonsulfat nicht zu erzielen sind, haben wir oben schon hingewiesen. Für Untersuchungen nach therapeutischen Maßnahmen hat die Goldreaktion vor der Phase I den Vorteil, daß sie in beinahe vollkommen objektiver Weise in Kurven dargestellt werden kann zu Vergleichszwecken, was natürlich bei Phase I mit ihren willkürlichen Gradbezeichnungen nur in viel unvollkommenerer Weise möglich ist. Eine nicht willkürliche Registrierung auf kolorimetrischem Wege kann übrigens dadurch erreicht werden, daß man eine feste Skala der Nuancen des Goldsols zwischen rot und weiß aufstellt. Dies läßt sich durch die absinkende Goldschutzreihe irgendeines reinen Eiweißkörpers, z. B. Kasein, leicht erreichen. Wir benutzten fallende Mengen einer Nutroselösung $^1/_{100000}$ und gaben zu 1 ccm der verschiedenen Nutroseverdünnungen 5 ccm Goldsol und 0,5 ccm 10% Kochsalzlösung (10 NaCl + 90 H_2O). Man kann so leicht eine Reihe von 10 und mehr genau zu unterscheidenden Farbennuancen erzielen, die objektiv durch die Anzahl mg Nutrose bestimmt ist. Die Nutroselösung hält sich gegenüber dem Gold nur wenige Tage unverändert, muß daher öfters erneuert werden, auch die Farbskala ist nicht haltbar, da die Ausflockung ganz allmählich weiter fortschreitet.

Hier müssen wir noch auf einen Punkt der Technik eingehen, die genaue Abmessung mit Pipetten betreffend. Bei Herstellung der Nutroselösung $^1/_{100000}$ und Abmessungen dieser Lösung stellte sich heraus, daß selbst gut gearbeitete verschiedene Pipetten Differenzen ergeben. Um daher stets die gleiche Pipette benutzen zu können, reinigten wir sie auf die Weise, daß wir mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe zuerst destilliertes Wasser durch die Pipette durchlaufen ließen, dann wenig Alkohol und Äther; mit dem durch die Wasserstrahlpumpe erzeugten kräftigen Luftstrom, der die Pi-

pette durchstreicht, werden dann die letzten Reste Äther schnell entfernt. Diese Reinigung erweist sich als absolut genügend für die Goldmethode und läßt sich in weniger als einer Minute erledigen. Wir möchten hier aber noch bemerken, daß diese ganz exakten Abmessungen bei der einen Methode, deren Resultate allein wir hier geben, gar nicht nötig sind, da eine Goldausflockung durch kochsalzverdünnten normalen Liquor in keiner Verdünnung auftritt, eine Ausflockung in irgendeiner Verdünnung also pathologische Bedeutung hat, auch wenn die Verdünnung nicht absolut genau hergestellt ist.

Wir haben nun beinahe 100 Fälle mit dieser Methode untersucht und gleichzeitig die anderen Untersuchungsmethoden mit benutzt. Weil die Untersuchungsmethode einen so breiten Raum einnahm, begnügen wir uns hier, nur kurz die Resultate der Goldmethode zu geben, ohne auf die klinischen Verhältnisse und die Resultate der anderen Untersuchungsmethoden näher einzugehen, wir behalten uns dies für eine besondere Veröffentlichung vor. In der hier angeführten Tabelle haben wir daher nur ganz kurz die Diagnose angegeben und 5 Reaktionsgrade unterschieden, weil die genaue kurvenmäßige Darstellung jedes einzelnen Falles unnötig Platz wegnähme und auch weniger übersichtlich wäre. Erinnert sei hier allerdings gleich an die schon erwähnten Verhältnisse, daß Unterschiede im Ausflockungsmaximum eine wesentliche Bedeutung besitzen, wenn daher in dieser Tabelle eine Paralyse und eine Meningitis purulente gleichmäßig mit +++++ bezeichnet sind, so ist damit nur gesagt, daß bei beiden bei irgendeiner Verdünnung vollkommene Goldausflockung erreicht wird, ohne daß deshalb die Kurven identisch wären.

Laufende Nummer	Name	Diagnose	Goldausflockung
2	Za.	Lues II. Kopfschmerzen	++
5	Pi.	L. lateus. "	++++
12	Dz.	L. lat. "	++
15	We.	L. I/II.	+
25	Ga.	L. lat. Kopfschmerzen	+
26	Ge.	L. lat. "	+++
35	We.	L. III. Gravis	+++++
37	Es.	L. lat. Kopfschmerzen	+++++
39	Ha.	L. lat. "	±
47	He.	L. III. "	±
49	Eu.	L. II. "	++
51	Ne.	L. I/II. "	+++
76	Mü.	L. II. "	±
82	Gl.	L. lat. "	+++
94	Schw.	L. I/II. "	++
16	Hu.	L. lat.	0
32	Ko.	L. lat. Kopfschmerzen	0
33	Zi.	L. lat. "	0
34	Ha.	L. II. "	0
56	Mo.	L. III.	0
59	Ni.	L. III.	0
64	He.	L. lat.	0
73	Öst.	L. III.	0
74	Fi.	L. I/II. epileptischer Anfall	0 .
80	Ol.	L. lat. Kopfschmerz	0
87	St.	L. III.	±

Hier handelt es sich um Luesfälle, bei denen entweder ausgeprägte Kopfschmerzen die Indikation zur Lumbalpunktion gaben, oder sehr schwere Hauterscheinungen im Sekundär- und Tertiärstadium, oder dauernd positive Wassermannsche Reaktion während der Latenz; Fälle mit ausgesprochenem neurologischem Befund sind nicht darunter.

Man sieht, daß die Fälle von Lues mit Kopfschmerzen fast ausnahmslos positiv reagieren, was zusammen mit den Befunden der anderen Untersuchungsmethoden für eine Meningitis luetica spricht. Die anderen möglichen Ursachen der Kopfschmerzen scheinen an Wichtigkeit dahinter weit zurückzustehen; nur scheint auch bei Ausbruch der luetischen Sekundärerscheinungen eine einfache Meningitis serosa Kopfschmerzen hervorrufen zu können,

ohne daß außer stark erhöhtem Druck irgend etwas Abnormes zu finden ist.

Laufende Nummer	Name	Diagnose	Goldausflockung
1	Me.	L. cerebrospinalis	+++++
3	Pi.	L. „	+++++
14	Mi.	Meningitis spinalis luetica	++
17	We.	luet. Apoplexie	+
28	Ba.	L. cerebrospin. nach Salvarsan	±
52	Me.	L. cerebrospinalis	++++
57	Ke.	Hirngummen (?)	+++
75	Za.	Lues I, Facialislähmung	+++
81	Wa.	L. cerebrospinalis (?)	+++
90	Ne.	luetische Apoplexie	+
46	Si.	plötzlich einsetzende einseitige Schwerhörigkeit	+++++
50	Ne.	plötzlich einsetzende einseitige Schwerhörigkeit	+++++
58	Li.	Neuritis optica, L. II	+++
72	Ja.	Optikusatrophie 1 J. nach Infektion	++++
77	Ne.	Optikusatrophie einseitig	++++
79	Ma.	Neuritis optica, L. lat.	++++

Ausgesprochene Lues cerebrospinalis zeigt starke Reaktionen, mit Ausnahme eines intensiv mit Salvarsan behandelten Falles; doch wollen wir hier keineswegs die schwache Reaktion mit Sicherheit auf die Behandlung zurückführen, da der Fall vorher nicht untersucht war. Am auffälligsten sind die Fälle von Optikuserkrankung und plötzlich einsetzender Schwerhörigkeit, die ausnahmslos sehr starke Reaktionen zeigen, daneben sind alle anderen Reaktionen auch stark positiv, auch die Wassermannsche Reaktion. Dies spricht unseres Erachtens dafür, daß diesen Prozessen zum mindesten auch eine zentrale Erkrankung koordiniert ist, wenn nicht etwa die zentrale Erkrankung das auslösende Moment für die peripheren Manifestationen abgibt, besonders für die luetische Taubheit ist es schwer, den Prozeß zu lokalisieren; wenn auch meist das Labyrinth beteiligt ist, so scheint doch auch gleichzeitig eine basale Meningitis zu bestehen.

Laufende Nummer	Name	Diagnose	Goldausflockung
7	Ot.	beginnende Tabes	++++
21	Bä.	isolierte Pupillenstarre	++
18	Ge.	Paralyse (?)	+++++
13	Ka.	Tabes	+++++
24	Si.	isolierte Pupillenstarre	+++++
27	Ru.	Tabes incipiens	+++
30	St.	„ „	+++
40	Si.	Paralyse	+++++
41	Da.	Tabes	+++++
58	Ri.	isolierte Pupillenstarre	++++
71	Vo.	Tabes incipiens	+++
78	Schn.	Miosis-Pupillenstarre	+
86	Wo.	Paralyse (?)	+++
93	Kr.	„ (?)	+++++

Bei dieser Gruppe: Tabes und Paralyse zeigen sich bei einigermaßen ausgesprochenen Erscheinungen stets die stärksten Grade der Reaktion.

Es folgen jetzt die Fälle, wo entweder kein Luesverdacht bestand oder ein bestehender Luesverdacht durch den Ausfall der Wassermannschen Reaktion nicht bestätigt werden konnte; darunter befinden sich besonders auch Fälle, bei denen keine Affektion des Zentralnervensystems zu vermuten war.

Laufende Nummer	Name	Diagnose	Goldausflockung
4	Po.	von Lumbalanästhesie gewonnen.	0
6	Ra.	„	0
8	Co.	„	0
11	Ar.	„	0
13	Me.	„	0
19	Ku.	„	0
20	Mü.	„	0
38	Zi.	„	±
42	Ka.	„	±
44	He.	„	0
70	Schm.	„	0
91	We.	„	0

Laufende Nummer	Name	Diagnose	Goldausflockung
9	Pe.	Luesverdacht	0
10	Tr.	Pachymeningitis haemorrh.	0
29	Le.	multiple Sclerose	0
45	Go.	Carzinommetastase im Zerebr. (?)	0
48	Ke.	Luesverdacht	0
54	Schw.	Laryngitis haemorrh.	0
55	St.	multiple Sclerose	0
61	Pr.	Tetanus	0
63	Kl.	Demenz, Luesverdacht	++
83	Di.	Hysteroepilepsie	0
85	Go.	Schädeltrauma	0
88	Mü.	multiple Tuberkulose	0
89	Sche.	Epilepsie	0
92	Wo.	Alkoholpsychose-Paralyse	0

Von diesen Fällen ist nur Fall 63 bemerkenswert. Es handelte sich um einen vollkommen dementen jungen Mann mit multipler Knochentuberkulose, bei dem sich im Anschluß an eine unter Lokalanästhesie ausgeführte kleine Zehenoperation eine fortschreitende Gangrän anschloß, die eine Unterschenkelamputation nötig machte, welche in Lumbalanästhesie ausgeführt wurde; auf diese Weise gelangten wir in Besitz der Lumbalflüssigkeit, die eine mittelstarke Goldausflockung zeigte. Alle anderen Reaktionen — auch die

Laufende Nummer	Name	Diagnose	Goldausflockung
22	Wo.	Hirntumor, Gliom	+++
31	Tr.	Hirntumor	+
84	We.	Rückenmarkstumor	++++
36	St.	Meningitis Sinusthrombose	+++++
43	Lü.	Streptokokkenmeningitis	++
53	Gr.	Menigitis (?), Otitis media	+
60	Go.	Meningitis incipiens	+
62	Fa.	Scharlachotitis Meningitis	++++
65	Mo.	Otitis media Meningitis (?)	±
66	Ha.	„ „ „ (?)	0
67	Be.	Meningitis purulenta	+++
68	Lü.	„ „	+++++
69	Wa.	„ „	++++

Wassermannsche Reaktion im Serum — waren negativ. Bei der Untersuchung des Unterschenkels fanden sich dann Gefäßveränderungen, die von pathologisch-anatomischer Seite als luesverdächtig bezeichnet wurden, vielleicht handelt es sich in dem angegebenen Fall um eine hereditäre Lues.

Die Fälle von Meningitis purulenta betreffend ist nichts Neues zu dem früher Gesagten hinzuzufügen, die Kurven verlaufen bei gleichstarker Ausflockung durchgehend anders als Lueskurven. Interessant ist übrigens Fall 43, bei dem sich zu Anfang der Erkrankung im Lumbalpunktat neben positiver Phase I eine reine Lymphocytose fand, nicht ein einziger polymorphkerniger Leukocyt war zu finden, daneben fanden sich hämolysische Streptokokken. Nr. 68 stammt von dem gleichen Patienten kurz ante exitum; zu dieser Zeit bestand das Lumbalpunktat aus reinem Eiter mit massenhaft Streptokokken, die Lymphocyten standen jetzt zu den Leukocyten in einem Verhältnis von 1:20.

Dem bezüglich Hirntumoren oben bereits Erwähnten sind nur noch einzelne Daten betreffs Beobachtung 22 hinzuzufügen. Die Wassermannsche Reaktion im Serum war sicher positiv (++), im Lumbalpunktat 0. Im Liquor fand sich eine stark positive Phase I und eine große Menge Zellen, die fast ausschließlich aus kleinen Lymphocyten bestanden, daneben fanden sich große Zellen mit großem, blaßgefärbtem Kern und schollenartigen, unregelmäßig großen Einlagerungen. Die Goldreaktion zeigte eine Ausflockung nur bei $_{160}$, $_{320}$ und $_{640}$. Auffallend war der Unterschied zwischen der Stärke der Phase I und der Goldreaktion bei starker Lymphocytose. Bei der Sektion fand sich ein Gliom, das erweicht war und bis an die Seitenventrikel mit seiner Erweichungszone heranreichte. Bei starker Lymphocytose muß man sich also immer die Möglichkeit eines erweichten Hirntumors vor Augen halten.

Zusammenfassung.

Wenn man die Zerebrospinalflüssigkeit Frühluetischer untersucht, findet man in einer Prozentzahl von Fällen eine Beteiligung des Zentralnervensystems, die bis jetzt sicher stark unterschätzt wurde. Da sich diese Veränderungen zuweilen ohne gleichzeitiges Vorhandensein irgendwelcher klinischen Symptome finden können, so muß darauf gedrungen werden, daß bei jedem, der sich luetisch infiziert hat, im Verlauf der ersten Monate oder Jahre nach Infektion mindestens einmal eine Untersuchung der

Zerebrospinalflüssigkeit mit allen zu Gebote stehenden Untersuchungsmethoden vorgenommen wird. Kopfschmerzen, Fazialisparesen, Optikus- und Akustikusstörungen geben eine dringende Indikation ab, da diese Affektionen meist gleichzeitig mit einer zentralen Beteiligung bestehen. Es ist genau zu untersuchen, in welchem Prozentverhältnis derartige Affektionen in metasyphilitische Erkrankungen übergehen und wie sie durch Quecksilber und Salvarsan beeinflußt werden. Hier wurde nur als neu die Goldmethode besprochen, die schon jetzt klinisch gut brauchbare Resultate gibt; sie ist unter Umständen geeignet, Klärung zu verschaffen, wo die bis jetzt bekannten Methoden nicht ausreichen. Als chemische Untersuchungsmethode hat sie besonders den Vorzug, daß sie mit minimalen Quanten arbeitet und Gelegenheit zu einer ganzen Reihe neuer Untersuchungsmethoden gibt, deren eine hier näher ausgeführt wurde.

From the Bacteriological Laboratory of the London Hospital.
Dr. William Bulloch.

An investigation of the value of certain antigens for use in the Wassermann reaction, in particular of Sachs' new antigen.

By

James Mc Intosh and **Paul Fildes.**

Ever since the earliest days of the Wassermann reaction, discussion has centred round the antigen, not only from the point of view of obtaining the most efficient preparation but also of enquiring into the ultimate nature of the reaction.

The belief that the interaction of the antigen and syphilitic serum represented a true antigen-antibody combination was early shaken by the demonstration by Marie and Levaditi[1] that an extract of a normal liver could replace an extract of a syphilitic liver in the reaction. This discovery was again followed by the independent observations of Landsteiner, Müller and Pötzl[2], Porges and Meier[3], and Levaditi and Yamanouchi[4], which showed that the Wassermann „antigen" differed from most true antigens in being alcohol soluble and was presumably of the nature of a lipoid.

From this time dated the attempts to replace the complicated organ extracts with pure solutions of lipoids. Porges and Meier were the first to use alcoholic solutions of lecithin with advantage. Levaditi and Yamanouchi found sodium taurocholate and glycocholate to be possessed of antigenic value, and to a less extent lecithin. These last observers found cholesterin to be without effect. On the other hand Fleischmann[5] reported satisfactory results with cholesterin, results better than he was able to obtain with lecithin. The most potent substance however was found to be vaseline. Glycogen and kaolin gave no fixation with syphilitic serum. Hans Sachs[6] then, in conjunction with Altmann, entered the experimental field with sodium oleate and later, with Rondoni[7], introduced the artificial mixture of lecithin, sodium oleate, oleic acid and alcohol.

This mixture was tested by Facchini[8], and Eisenberg and Nitsch[9] and found to give satisfactory results.

Noguchi[10] has endeavoured to isolate the reacting substance from alcoholic extracts of animal organs by a process of fractional solution and precipitation. In this way he separated the non-specific inhibiting and haemolytic substances from the antigenic constituents. These consisting mostly of lecithin were to be found in the acetone-insoluble fraction. This work has been continued with the assistance of Bronfenbrenner[11].

A notable advance was then made by Browning, Cruickshank and Mackenzie[10 11] who found that, though cholesterin alone had no antigenic effect, mixtures of lecithin and cholesterin gave a particularly specific reaction with syphilitic serum.

These authors have laid it down that if the addition of cholesterin is capable of increasing the quantity of complement absorbed beyond the amount absorbed by lecithin alone, this is an indication of the syphilitic nature of the serum used.

While the study of isolated constituents of the antigen was thus proceeding, attention was also directed to crude extracts of various animal tissues. The alcoholic extract of syphilitic liver was of course widely used, but owing to the variation in the quality of different samples fell into disfavour in many quarters. Landsteiner, Müller and Pötzl introduced alcoholic extracts of guinea-pig heart and Michaelis[14] human heart. This last was thoroughly tested by Thomsen[15] and Boas[16] and is used as a routine in the Statens Seruminstitut at Copenhagen. A slight modification by Lesser[17] utilised a watery emulsion of the residue obtained by evaporating an ether extract of human heart. This antigen has recently been found by Dembowski[18] to be better than a simple alcoholic extract of heart or an extract of syphilitic liver.

Acetone extracts of dried organs have been suggested by Kolle and Stiner[19].

The latest notable advance in the preparation of antigens has been the suggestion of Hans Sachs[20] to combine the alcoholic extracts of animal organs with cholesterin, thus utilizing the increased effect of this substance demonstrated by Browning, Cruickshank, and Mackenzie. The addition of cholesterin to organ extracts was found by Sachs to endow these, however unsatisfactory alone, with properties equal to those possessed by the best syphilitic

extracts. The mixtures had the further advantage of being cheap and obtainable in unlimited amount.

It will be recognised that the large number of suggested antigens is evidence of some dissatisfaction in their general behaviour and the use of different antigens of varying suitability is probably the chief cause for the diverse results obtained by numerous workers in the Wassermann reaction.

A demand has therefore risen for an antigen which will give consistent results in the hands of different investigators and at the present time several „standard antigens" are obtainable on the open market. The supply of these is, however, necessarily somewhat limited and, further, their cost is great; the suggestion of Sachs would therefore, if confirmed, have the advantage of supplying an antigen which could be readily prepared anywhere and still give consistent results. The object of this research was to subject various antigens to comparative routine tests in order to determine their claims to be regarded as a „standard antigen". We have selected for comparison the following representative types —

1. Alcoholic extract of syphilitic liver (Wassermann),
2. Alcoholic extract of human heart (Michaelis),
3. Alcoholic solution of lecithin and cholesterin (Browning, Cruickshank and Mackenzie),
4. Alcoholic extract of animal organs with cholesterin (Sachs).

Description of the test antigens:

1. Alcoholic extract of syphilitic liver.

In order to avoid the difficulty in obtaining an undoubtedly efficient liver extract, we availed ourselves of the preparation which is made under the direction of Wassermann and Meier by the firm of Gans, Frankfurt a. M. The samples were purchased from A. and M. Zimmermann, the London agents. No details of the manner of preparation were supplied, but each bottle was marked with the quantity to be used in conjunction with the suggested technique. It will be, of course, understood that we have not been bound by this direction but have used the quantity which was considered by us to be suitable for our own particular technique.

2. Alcoholic extract of human heart.

This is a 10 per cent extract of heart muscle with absolute alcohol. The heart may be obtained from any type of cadaver.

It is apparently of no importance whether pathological processes are present or not, nor does the age of the subject affect the result. The muscular portions from the left ventricle are freed from fat and passed through a mincing machine. One gramme of this mince is then mixed with 9 c. c. of absolute alcohol and ground for one minute with clean sand in a mortar. The whole is then transferred to a stoppered bottle and shaken automatically for $1^1/_2$ hours at room temperature. The extract is next filtered through paper and kept in a stoppered bottle. This extract is probably not capable of being kept for a long time in an unaltered condition. Owing to the ease of manufacture we prefer to discard it after 4 weeks.

3. **Alcoholic solution of lecithin and cholesterin.**

This antigen was bought from Messrs. Thomson, Skinner & Hamilton, Glasgow, who prepare the solution according to the directions of Browning, Cruickshank and Mackenzie. It consists of a 0.75 % solution of lecithin in alcohol which is then saturated with cholesterin. The lecithin is obtained from ox liver. For details of preparation, see Browning and Mackenzie[21].

4. **Alcoholic extract of animal organs with cholesterin.**

The actual combinations suggested by Sachs were extracts of ox liver, ox heart and guinea-pig heart, together with cholesterin, but we have used human heart in the same proportions. The antigen is thus prepared by adding 5 parts of the human heart extract described above to 4 parts of a 1 % solution of cholesterin (Kahlbaum) in absolute alcohol.

Standardization of the test antigens.

In order to make a direct comparison between the antigenic power of these 4 preparations, it is necessary to determine the principles which govern the quantity of the different antigens to be used in the test. In general it may be said that the maximum quantity should be used which does not give rise to any danger from nonspecific anti-complementary effect. All alcoholic antigens exert a destructive effect upon complement without the co-operation of syphilitic serum and thus the amount to be used is governed by this property. In practice it is usual to allow a certain margin of safety, the extent of this margin varying with the opinion of the investigator; thus the quantity recommended for use with the

Wassermann-Meier technique completely inhibits in double dose according to our observations. Boas also used about half of that quantity which alone gave complete inhibition of haemolysis; we, on the contrary prefer a somewhat greater margin of safety and use about $^1/_3$ of that quantity which will give complete inhibition alone. When performing the Wassermann reaction therefore we use relatively less antigen than obtains with the Wassermann method or in the Statens Seruminstitut at Copenhagen, but nevertheless the results obtained with the four test antigens are of course comparable. Further, comparative tests between the technique described for use with the Wassermann-Meier antigen and our technique using the same antigen show that the use of our method certainly does not give less marked reactions with the same serum.

Before giving the details of experiments it is essential shortly to describe the technique used by us in the Wassermann reaction and observations depending on it.

1. Standardization of the amboceptor against 0.1 cc of guinea-pig complement diluted 1 in 2. Adjust the volume before the addition of complement to 0.9 cc. Finally add 0.5 cc of 5% sheeps corpuscle emulsion; the total volume will thus be 1.5 cc. Incubate for 1 hour and then read minimal haemolytic dose of amboceptor. This titration is not performed every time the amboceptor is used.

2. Standardization of the complement against 3 m. h. d. of amboceptor. The complement is diluted with saline to make 1 cc and 0.5 cc of the sensitized 5% corpuscle emulsion is added. Incubate 1 hour; read m. h. d. Use $2^1/_2$ m. h. d. for the W. R. diluted with saline so that its volume is 0.1 cc.

3. Dilute the antigen as directed and measure into a test tube 0.8 cc. Into the control tube 0.8 cc of saline.

4. Into each test tube 2 drops (0.1 cc) of inactivated serum. Pipettes may be calibrated to deliver 20 drops to the cc. In the case of cerebrospinal fluid 4 drops are added unheated.

5. Into each tube 0.1 cc of diluted complement making a total volume of 1 cc.

6. Incubate for 1 hour and add 0.5 cc of the sensitized (3 m. h. d.) corpuscle emulsion.

7. Incubate for 1 hour and read the results, or when slight differences of haemolysis are to be observed, leave on ice over night.

No case is counted positive unless the inhibition of haemolysis is complete or nearly complete.

8. In cases where a quantitative estimation of a syphilitic serum is required, the quantities of serum may diminish by 50 or 25 per cent, the amount of antigen being kept constant.

The dilutions may be made by ordinary measuring pipettes or by specially calibrated dropping pipettes, according to the method of R. Donald (not yet published).

When the anti-complementary action of various alcoholic antigens is estimated it will be found that this is practically equal in various samples and further this action appears to be mainly due to the alcohol present.

Exp. To show the anti-complementary effect of various antigens.

Eeach dilution of antigen was separately prepared and 0.8 cc of each dilution was tested against 2½ minimal haemolytic doses of complement. The syphilitic liver was prepared in the manner described for human heart.

Dilution of Antigen 0.8 cc	Alcohol 93%	Human Heart	Syphilitic liver	Syphilitic liver (Wassermann- Meier)	Lecithin Cholesterin	Human Heart Cholesterin
1 in 16	O	O	O	O	O	O
„ 10	O	O	O	O	+	+
„ 8	++	O	++	O	+++	+++
„ 6	++++	++++	++++	++++	++++	++++
„ 4	++++	+	++	++++	++++	++++
„ 3	O	O	O	O	+++	++

(The + signs are proportional to the degree of inhibition of haemolysis. Thus ++++ = No haemolysis in the sense of a complete positive Wassermann reaction.)

It will be seen above that the same amount of complement is totally destroyed by similar amounts of alcoholic antigen and alcohol; but that the zone of inhibition extends somewhat farther with the cholesterin antigens.

The haemolytic action of the heart antigen is rather more marked than usual, while most syphilitic liver antigens give more haemolysis than is represented here. This action appears to be due not only to dissolved haemolytic substances but also to the alcohol.

In the case of cholesterin antigens the haemolytic action is to some extent inhibited.

Since therefore the amount of antigen capable of being used is governed by the anti-complementary action and this being mostly

due to the alcohol, it follows that all ordinary alcoholic extracts must be compared in equal amounts. As already stated the actual quantity used is 1/3 of that which will give complete inhibition alone, that is, in the case of ordinary antigens 0.8 cc of a 1 in 16 dilution. As indicated above the cholesterin antigens exert a wider zone of inhibition and therefore we use somewhat smaller quantities of these. Of lecithin-cholesterin the quantity may be 0.8 cc of a 1 in 20 dilution, while still less is desirable of heart-cholesterin antigen, thus 0.8 cc of a 1 in 24 dilution. By these methods it will usually be found that double the quantity of antigen suggested will just or nearly permit of complete haemolysis when tested alone with the proper quantity of complement.

Another method of standardizing antigens is to vary the amount of the alcoholic extract in the test in order to produce a constant effect upon a known syphilitic serum.

This method appears to us to be open to objection.

Firstly, it is not possible to select a syphilitic serum of standard strength against which to test the antigens. The „titre" of a syphilitic serum is very variable from patient to patient even when these exhibit similar clinical symptoms.

Secondly, the use of different quantities of alcoholic antigen introduces a variable factor in the different quantities of alcohol present. Not only does this involve a variation in the anti-complementary action but also the alcohol itself has a marked „specific" effect upon the reaction and therefore variable quantities of this substance cannot be introduced into a comparison of true antigenic action.

Exp. To show the effect of using increasing quantities of an inefficient antigen.

The smallest quantity of a secondary syphilitic serum was found which would just give complete inhibition of haemolysis with heart-cholesterin antigen. This proved to be 0.017 cc. The syphilitic serum was then diluted so that this quantity was contained in 0.1 cc and this was finally tested against increasing quantities of heart antigen. A second series was introduced in which the same quantity of serum was tested against mixtures in which the amount of antigen was constant but the amount of alcohol increased in the same proportion as the antigen increased in the first series. Each strength of antigen or antigen and alcohol was separately diluted.

Syphilitic serum	Heartantigen 0.8 cc of the following dilutions	Result	Heart antigen + alcohol (93%) 0.8 cc of the following dilutions	Result	Heart-Cholesterin Antigen 0.8 cc of a 1 in 24 dilution
0.1 cc	1 in 16	++	—	—	++++
„	1.14 in 16	+++	1 Ant + 0.14 Alc in 16	++	—
„	1.33 in 16	+++	„ + 0.33 Alc in 16	++	—
„	1.6 in 16	+++⊥	„ + 0.6 Alc in 16	+++⊥	—
„	2 in 16	++++	„ + 1.0 Alc in 16	++++	—
O	2 in 16	O	„ + 1.0 Alc in 16	O	O

(The + signs are proportional to the degree of inhibition of haemolysis. Thus ++++ = No haemolysis in the sense of a complete positive Wassermann reaction. +++⊥ = trace of haemolysis.)

From the above experiment it will be seen that 0.017 cc of a syphilitic serum just gave complete fixation with heart cholesterin antigen. This quantity of serum however did not give complete fixation with heart antigen. In order to obtain this result double the quantity of this latter must be used. Such an amount would however be very near the anti-complementary dose and further it is clear that the increased fixation obtained was very largely due to the alcohol present since a similar result was obtained by using the original inefficient quantity of antigen plus an amount of alcohol equal to that present in the extra alcoholic antigen. In this experiment therefore it may be said that heart cholesterin exerts a much greater „antigenic" action than does heart antigen. Similar results may be obtained in the case of the syphilitic liver and the lecithin cholesterin antigens.

The dilution of the test antigens.

As shown long ago by Sachs and Rondoni the method of dilution of the antigens is important in order to obtain the best results in each case. Generally they should be mixed with the saline slowly. The improved effect is not present with every serum tested but in some cases it is very marked. The method employed

by Browning, Cruickshank and Mackenzie for their lecithin-cholesterin antigen is to flow the alcoholic solution on to the surface of the saline in a test tube and then to roll the tube between the hands in an inclined position. The aim is to obtain an emulsion of maximum turbidity. We have found however, that the method suggested for the antigen of Wassermann-Meier, gives on the whole better results. The alcoholic antigen is placed in a test tube and the requisite quantity of saline is added at first drop by drop with continuous shaking. In the case, however, of the heart-cholesterin antigen the method of mixing does not appear to have so much effect upon the antigenic properties, though it is usually found that rapid mixing is most efficacious. Thus this antigen should be flowed in a test tube upon the surface of the saline and then the tube should be rapidly shaken.

Exp. To show the effect of slow and rapid dilution of the antigens —

Equal quantities (0.8 cc) of the various antigens were tested against diminishing quantities of a serum from a case of secondary syphilis.

Syphilitic serum	Lecithin-Cholesterin 1 in 20		Heart 1 in 16		Syphilitic liver 1 in 16		Heart-Cholesterin 1 in 24	
	Rapid	Slow	Rapid	Slow	Rapid	Slow	Rapid	Slow
0.1 cc	++	++++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
0.075	+	+++	++	++++	+++	++++	++++	++++
0.052	O	+	O	++++	+	++++	++++	++++
0.042	O	O	O	++++	O	+++	++++	+++
0.031	O	O	O	++	O	++	++	++
0.023	O	O	O	O	O	O	O	O

(The + signs are proportional to the degree of inhibition of haemolysis. Thus ++++ = No haemolysis in the sense of a complete positive Wassermann reaction.)

The physical properties of the antigens are quite different according tho method of dilution. If the dilution is rapid the opacity of the emulsion is minimal; if slow maximal.

	Rapid.	Slow.
Syphilitic liver —	No opacity	Slight opalescence
Heart	Very slight opalescence	Strongly opalescent
Heart-cholesterin	Opalescent	Strongly opalescent
Lecithin-cholesterin	Milky	Milky

Comparison of antigenic property.

The material on which the 4 antigens have been tested consists of over 500 sera and cerebrospinal fluids including over 300 cases of syphilis. It may be remarked that the clinical diagnosis has been the subject of special attention. The majority of the cases of manifest syphilis emanated from the dermatological clinic of the London Hospital (Dr. J. H. Sequeira) and most of the neurological patients were under the care of Dr. Henry Head. The diagnosis of the cases under treatment by mercury or salvarsan was not open to doubt. In a certain number of sera sent up without adequate information positive reactions were obtained, these have been classed as „undiagnosed cases". The controls are represented by 159 sera from patients in whom there was no reasonable suspicion of syphilis. Many of these were suffering from conditions which rendered the exclusion of syphilis from the clinical possibilities desirable. Some had been diagnosed as such but the diagnosis was not upheld subsequently. A few positive reactions were obtained in persons selected as non-syphilitic controls, in such cases it was possible to disclose the presence of syphilis by other means.

The method employed was to test every serum with heart-cholesterin and heart antigen. If sufficient serum was available a test was also made with syphilitic liver. The lecithin cholesterin antigen was only employed when the largest quantity of serum was obtained. Thus the number of comparisons between heart-cholesterin and heart represent the total number of sera tested. Since no antigen gave a positive reaction in any case in which heart-cholesterin gave a negative, the results have been tabulated as comparisons between heart-cholesterin and the other antigens, as follows:

Nature of Case tested	Comparison between Heart-Cholesterin and	Number of Tests	Number positive with Heart-Cholesterin	Number positive with Heart-Cholesterin only	Improvement Per-cent. with Heard-Cholesterin	Remarks
Primary Syphilis	Heart (H)	15	12	7		The small number of cases giving a positive result is no doubt due to the unusual earliness of the lesions
	Syphilitic liver (SL)	5	4	4		
	Lecithin-Cholesterin (LC)	5	4	3		
Secondary Syphilis	H	16	15	0		The case giving a negative reaction with Heart and Heart-Cholesterin had S. pallida in the cutaneous lesions. The reaction became positive later
	SL	8	8	0		
	LC	7	7	0		
Tertiary Syphilis	H	53	53	7		
	SL	29	29	2		
	LC	22	22	3		
Syphilis with Symptoms (Primary, secondary and tertiary combined)	H	84	80	14	16	
	SL	42	41	6	14	
	LC	34	33	6	17	
Syphilis of the centralnervous system including Parasyphilis	Serum H	56	48	15		
	SL	31	27	6		
	LC	28	24	10		
	Spinal fluid H	29	22	10		
	SL	21	16	7		
	LC	21	16	6		
Syphilis after mercury treatment (No symptoms)	H	49	39	11		Period of treatment nearly always prolonged
	SL	29	26	3		
	LC	20	18	7		
Syphilis after Salvarsan treatment (No symptoms)	H	113	63	30		Several tested before the reaction had had time to become negative
	SL	70	39	11		
	LC	51	26	13		
Non-syphilitic diseases	H	159	1	1		The case giving a positive result with Heart-Cholesterin was Malaria, 12 hours after the rigor
	SL	81	0	0		
	LC	59	0	0		
Undiagnosed cases	H	26	6	1		
	SL	15	6	1		
	LC	10	4	1		
Total of all cases of Syphilis tested	H	331	252	80	24	
	SL	193	149	33	17	
	LC	154	117	42	27	
Total number of cases tested	H	516				
	SL	289				
	LC	223				

In the above series of tests no case gave a negative reaction with heart-cholesterin and a positive with either of the other antigens.

As might be expected the difference between the results is least marked in secondary and tertiary syphilis when the reaction is usually strong quantitatively. In primary syphilis and syphilis of the nervous system as also in the latent cases the advantage of the heart-cholesterin antigen is very marked. No tendency has been observed towards the production of „non-specific" results, although it may be admitted that in the case of the heart-cholesterin antigen less attention must be paid to trivial inhibitions of haemolysis than may be permissible for instance when using heart antigen. The great increase in the reacting power of the former allows the use of a haemolytic system somewhat more active than is usual when working with the latter antigen. In only 3 non-syphilitic cases, tuberculosis associated with pyrexia, was any marked tendency towards inhibition of haemolysis found. In these 3 cases, however, this tendency was shown equally by all four of the test antigens. The control cases included a large number of sera from diseases which are apt to give non-specific inhibitions, but all reacted negatively except one case of malaria, a phenomenon which has frequently been described.

It is clear that since the heart-cholesterin antigen shows practically every case of secondary and tertiary syphilis to be positive, a negative result when such conditions are suspected will have a much greater value than has been the case formerly.

As a result of the routine tests tabulated above we conclude that the heart-cholesterin antigen represents a very marked improvement on the other antigens, and, indeed, much increases the value of the Wassermann reaction in cases in which formerly the results were inconclusive.

Variation in the properties of the Heart-Cholesterin antigen.

Having demonstrated the value of the heart-cholesterin antigen in the diagnosis of syphilis, it becomes necessary to observe to what extent this value varies from sample to sample. In the case of syphilitic liver the value of various samples is of course very fluctuating. The Wassermann-Meier antigen is better than heart, but most syphilitic organ-extracts which have come into our hands have been less efficient than heart.

The properties of the heart-cholesterin antigen are, however, extremely constant. We refer to the anticomplementary and haemolytic properties and the antigenic effect. This finding is in accord with that of Thomsen who found the antigenic value of 40 human heart extracts to be equal.

Exp. To show the unvarying anticomplementary and haemolytic action of heart-cholesterin antigens. —

In order to obtain antigens of constant value it is, of course, necessary to take particular care that the methods of preparation are kept constant. In all, 24 different antigens have been made and these were compared in 2 groups of 12. Their properties were found to be equal as shown in the following table representing the second series.

Increasing quantities of antigen, each dilution being separately mixed, were tested against $2^1/_2$ minimal haemolytic doses of complement.

0.8 cc of dilutions	Antigen No											
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1 in 16	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
1 in 10	±	O	O	O	O	+	O	±	O	O	O	O
1 in 8	++	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++
1 in 6	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1 in 4	+++⊥	+++⊥	+++⊥	+++⊥	++++	+++⊥	++++	+++⊥	+++⊥	+++⊥	+++	++++
1 in 3	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

(The + signs are proportional to the degree of inhibition of haemolysis. — Thus ++++ = No haemolysis in the sense of a complete positive Wassermann reaction, +++⊥ = trace of haemolysis.)

Since, therefore, the anticomplementary action of these antigens is equal, it is necessary to use equal quantities of each when comparing their antigenic properties.

Exp. Showing the unvarying antigenic value of the heart-cholesterin antigen.

Equal quantities (0.8 cc of a 1 in 24 dilution) of the same 24 antigens were tested against 2 different syphilitic sera in 2 series. Antigens 13—24 were tested against a serum from a secondary syphilitic.

Syphilitic serum	Antigen No											
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
0.075 cc	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
0.052	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
0.042	+++	+++⊥	+++	+++	+++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++
0·031	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	++
0.023	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.017	O	+	+	O	O	O	O	O	O	O	O	O

(The + signs are proportional to the degree of inhibition of haemolysis. Thus ++++ = No haemolysis in the sense of a complete positive Wassermann reaction. +++⊥ = trace of haemolysis).

It is seen, therefore, that the antigenic value of various samples of heart-cholesterin antigen is equal.

(We desire to express our thanks to Dr. J. H. Sequeira and Dr. Henry Head for the facilities they have extended to us in the carrying out of the tests.)

Conclusions.

1. An antigen prepared by combining an alcoholic heart antigen with cholesterin in the manner described is a great improvement over heart antigen alone, syphilitic liver or lecithin-cholesterin antigens for use in the Wassermann reaction.

2. The essential properties of various samples of heart-cholesterin antigen are unvarying; thus we consider that this preparation fulfils the requirements of a „standard antigen".

Literature.

1. A. Marie and C. Levaditi, Annales de l'Institut Pasteur 1907. XXI. 138.
2. K. Landsteiner, R. Müller and O. Pötzl, Wien. klin. Wochenschr. 1907, 1565.
3. O. Porges and G. Meier, Berl. klin. Wochenschr. 1908. 731.
4. C. Levaditi and T. Yamanouchi — C. r. d. l. Soc. de Biol. 1907. LXIII. 740.
5. Fleischmann, Berl. klin. Wochenschr. 1908. 490.
6. H. Sachs and K. Altmann, Berl. klin. Wochenschr. 1908. 494.
7. H. Sachs and P. Rondoni, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. 1909. I. 132.

8. Facchini, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. 1909. II. 257.

9. P. Eisenberg and R. Nitsch, Zeitschr. f. Immunitätsforch. Orig. 1909. III. 376.

10. H. Noguchi, Journ. of Exp. Med. 1909 XI. 84.

11. H. Noguchi and J. Bronfenbrenner, Journ. of Exp. Med. 1911. XIII. 43.

12. C. H. Browning, J. Cruickshank and I. Mackenzie, Biochem. Zeitschr. 1910. XXV. 85.

13. C. H. Browning, J. Cruickshank and I. Mackenzie, Journ. of Pathology and Bacteriology 1910. XIV. 484.

14. Michaelis, Berl. klin. Wochenschr. 1908. 667.

15. O. Thomsen, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. 1910. VII. 389.

16. H. Boas, Die Wassermannsche Reaktion. Berlin 1911. (Springer.)

17. F. Lesser, Berl. klin. Wochenschr. 1909. 974.

18. H. Dembowski, Deutsch. med. Wochenschr. 1911. 1651.

19. W. Kolle and O. Stiner, Deutsche med. Wochenschr. 1911. 1739.

20. H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1911. 2066.

21. C. H. Browning and I. Mackenzie, Recent methods in the diagnosis and treatment of Syphilis. London 1911. (Constable.)

Aus dem sero-bakteriologischen Institut des Städtischen Krankenhauses zu Kobe, Japan.

Komplementbindung bei Cholera und der Wert der Komplementbindungsmethode mit den Fäces für die rasche serologische Choleradiagnose.

Von

Dr. **T. Amako**, Direktor des Krankenhauses und Dr. **K. Kojima**, Oberarzt.

Während der letzten Choleraepidemie in Kobe haben wir Gelegenheit gehabt, die komplementbindende Kraft des Serums von Cholerakranken und Bakterienträgern zu untersuchen. Dabei haben wir auch die Komplementbindungsfähigkeit der spezifischen Antigene, die man in Cholerafäces findet, geprüft und endlich stellten wir die Verwendbarkeit der Komplementbindungsmethode für die Choleradiagnose fest.

Komplementbindung bei Cholera.

Es wurden im ganzen 67 Cholerakranke und Bakterienträger untersucht. Die Sera der Kranken wurden von dem durch Venenpunktion erhaltenen Blut gewonnen. Als Antigen haben wir die Extrakte in Anwendung gebracht, die in der Weise hergestellt wurden, daß eine 24-stündige Schrägagarkultur der Choleravibrionen mit je 1 ccm destilliertem Wasser abgeschwemmt, die Aufschwemmung 24 Stunden bei Zimmertemperatur im Schüttelapparat belassen, darauf bis zur völligen Klarheit zentrifugiert und endlich 0,5 % Karbolsäure hinzugefügt wurde.

Da zwischen den verschiedenen Cholerastämmen inbezug auf ihre Komplementbindungsfähigkeit starke Unterschiede bestehen, so haben wir zu unsern Versuchen aus den zahlreichen Cholerastämmen stark komplementbindungsfähige gewählt. Der Extrakt wurde gewöhnlich mit 3 bis 4 Cholerastämmen hergestellt. Solche polyvalenten Extrakte besaßen dem monovalenten Extrakte gegenüber große Vorteile.

Die Extrakte wurden stets in Vorversuchen auf ihre eigenen

hemmenden Eigenschaften geprüft. Bei den Hauptversuchen wurde die Hälfte oder ein Drittel derjenigen Menge, die keine eigene Hemmung mehr erkennen ließ, verwandt.

Als Komplement diente uns frisches Meerschweinchenserum in einer Verdünnung 1:10. Das hämolytische Serum wurde von einem Kaninchen, das mit Hammelblutkörperchen vorbehandelt war, gewonnen und in einer 4 bis 5 fach lösenden Dosis in Anwendung gebracht. Die Versuche wurden nach den Angaben von Leuchs[1]) angestellt. Jedes Reagens enthielt 1 ccm an Volumen, jedes Röhrchen somit 5 ccm.

Die Resultate unserer Untersuchungen haben wir in den Tabellen I bis V zusammengefaßt.

A. Versuche mit den Seris von Choleraträgern.

Tabelle I. Choleraträger.

Nr.	Name	Alter Jahre	Titerwert der komplementbindenden Kraft des Serums	Titerwert der agglutinierenden Kraft des Serums
1	Sugano	20	0,1 ccm	1:40
2	Tsutsumi	29	negativ	negativ
3	Mori	28	"	"
4	Ohsawa	23	0,1 ccm	1:80
5	Konishi	21	negativ	negativ
6	Yamasaki	31	"	"
7	Hirota	7	"	1:20
8	Tamaki	40	0,05 ccm	1:80
9	Okai	56	negativ	negativ
10	Nakanishi	46	"	"
11	Yonetani	55	"	"
12	Ohkawa	38	0,1 ccm	1:40
13	Nishisaka	18	negativ	negativ
14	Nishizu	39	0,1 ccm	1:160
15	Hiramoto	12	negativ	negativ
16	Yamamoto	57	"	"
17	Amano	25	"	"

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, ergaben von den untersuchten 17 Choleraträgern nur 5 Fälle eine positive Komplementbindungsreaktion. Der Titerwert betrug bei denselben in 4 Fällen nur 0,1 ccm und in einem Falle 0,05 ccm. Die Agglutination, welche mit stark agglutinierbaren Cholerastämmen ausgeführt wurde,

[1]) Leuchs, Zeitschrift für Hygiene, Bd. LX, 1908.

trat in 6 Fällen positiv auf. Ihr Titer schwankte zwischen 1 : 20 bis 160; es agglutinierten ein Fall in einer Verdünnung 1:20, 2 Fälle in 1:40, 2 Fälle in 1:80 und endlich 1 Fall in 1:160.

B. Versuche mit den Seris von leichten Cholerakranken.

Tabelle II. Leichte Cholera Fälle.

Nr.	Name	Alter Jahre	Dauer der Erkrankung bis zur Blutentnahme	Titerwert der komplementbindenden Kraft des Serums	Titerwert der agglutinierenden Kraft des Serums
			Tage		
1	Aihara	18	10	0,02 ccm	1 : 640
2	Kimura	13	7	0,02 ccm	1 : 320
3	Kawata	24	16	negativ	1 : 80
4	Yamade	49	12	0,1 ccm	1 : 160
5	Sugano	20	11	0,1 „	1 : 80
6	Kobayashi	11	8	0,1 „	1 : 80
7	Miyawaki	27	16	0,2 „	1 : 80
8	Tsude	59	14	0,05 „	1 : 80
9	Takeda	46	15	negativ	negativ
10	Hayashi	25	9	0,02 ccm	1 : 80
11	Hamada	11	12	0,05 „	1 : 80
12	Miyasaki	51	15	negativ	1 : 40
13	Hayashi	32	13	„	1 : 80
14	Tsude	28	9	0,2 ccm	1 : 80
15	Tasaka	31	9	negativ	1 : 160
16	Nagato	38	11	0,2 ccm	1 : 80
17	Fujita	37	12	negativ	1 : 20
18	Ueda	34	8	0,05 ccm	1 : 80
19	Shiba	15	8	negativ	negativ
20	Tsujimoto	54	9	„	„
21	Wada	36	14	„	1 : 20
22	Yonetani	27	29	„	negativ
23	Hirao	28	20	„	1 : 20
24	Nishizu	11	11	0,02 ccm	1 : 320
25	Katsunishi	26	7	negativ	negativ
26	Shiba	48	6	„	„
27	Sugita	42	15	„	1 : 40
28	Arai	32	13	„	1 : 160
29	Endo	43	8	0,02 ccm	1 : 320
30	Shiraishi	39	7	negativ	1 : 80
31	Maeda	55	7	0,1 ccm	1 : 320
32	Shiba	20	5	negativ	negativ
33	Matsui	22	9	„	„
34	Nishima	29	8	„	„

Die Sera von den 34 leichten Cholerakranken gaben 15 mal eine positive Komplementbindung; 19 mal gelang es uns nicht, die Reaktion zu erhalten. Von den 15 Fällen trat

3 mal in einer Serummenge von 0,2 ccm,
4 „ „ „ „ „ 0,1 „ ,
3 „ „ „ „ „ 0,05 „ und
5 „ „ „ „ „ 0,02 ccm

eine komplette Hemmung der Hämolyse auf.

Agglutination konnten wir bei 25 Fällen beobachten; der Titerwert betrug bei 3 Fällen 1:20; bei 2 Fällen 1:40, bei 12 Fällen 1:80, bei 3 Fällen 1:160, bei 4 Fällen 1:320 und bei einem Falle 1:640.

C. Versuche mit den Seris von mittelschweren Cholerakranken.

Es wurden 17 mittelschwere und 11 schwere Fälle (zusammen 28 Fälle) untersucht. Bei beiden Arten trat die Komplementbindungsreaktion 20 mal positiv auf. Der Titerwert betrug in einem Falle 0,2 ccm, bei 3 Fällen 0,1 ccm, bei 9 Fällen 0,05 ccm, bei 3 Fällen 0,02 ccm und bei 4 Fällen 0,01 ccm. Agglutination war bei 26 Fällen positiv und der Titerwert betrug bei einem Falle 1:20, bei 3 Fällen 1:40, bei 9 Fällen 1:80, bei 6 Fällen 1:160, bei 3 Fällen 1:320 und bei 3 Fällen 1:640. (S. Tabelle III).

Tabelle III. Mittelschwere und schwere Fälle.

Nr.	Name	Alter Jahre	Dauer der Erkrankung bis zur Blutentnahme	Titerwert der komplementbindenden Kraft des Serums	Titerwert der agglutinierenden Kraft des Serums
			Tage		
1	Oda	21	15	0,05 ccm	1:160
2	Shiotani	20	15	0,02 „	1:160
3	Katsushita	28	12	0,01 „	1:640
4	Kobayashi	18	13	0,02 „	1:640
5	Miki	32	9	0,2 „	1:80
6	Matsumoto	55	14	negativ	negativ
7	Endo	49	11	0,01 ccm	1:80
8	Asai	22	8	0,1 „	1:160
9	Watanabe	50	13	0,05 „	1:160
10	Kasei	31	17	0,05 „	1:80
11	Nishiya	29	10	0,1 „	1:40
12	Yoshida	21	19	negativ	1:80
13	Takenaka	46	13	„	1:40

Nr.	Name	Alter Jahre	Dauer der Erkrankung bis zur Blutentnahme	Titerwert der komplementbindenden Kraft des Serums	Titerwert der agglutinierenden Kraft des Serums
			Tage		
14	Goto	29	13	0,02 ccm	1 : 80
15	Shinohara	17	11	0,05 „	1 : 160
16	Tsuji	29	12	0,05 „	1 : 160
17	Kuwada	55	12	negativ	1 : 80
18	Kujime	18	8	0,01 ccm	1 : 320
19	Sakai	36	8	0,05 „	1 : 40
20	Terasaka	25	10	0,1 „	1 : 40
21	Izumi	27	15	0,05 „	1 : 80
22	Ikeda	23	12	0,05 „	1 : 80
23	Yamakawa	22	8	0,01 „	1 : 640
24	Koji	35	25	negativ	1 : 20
25	Numano	43	7	„	1 : 320
26	Watanabe	60	18	„	1 : 80
27	Akabe	16	9	„	negativ
28	Hirota	33	14	0,05 ccm	1 : 320

D. Versuch mit den Seris von foudroyanten Cholerafällen.

Es wurden foudroyante Fälle nur 2 mal untersucht. Die zu dieser Gruppe gehörenden Fälle endeten unter gefährlichen Symptomen (Stadium algidum) nach kurzer Zeit. Die Sera von beiden Fällen zeigten keine komplementbindende Kraft. Agglutination war ganz negativ, wie es schon Amako[1]) in einer früheren Arbeit beschrieben hat.

Tabelle IV. Foudroyante Fälle.

Nr.	Name	Alter Jahre	Dauer der Erkrankung bis zur Blutentnahme	Titerwert der komplementbindenden Kraft des Serums	Titerwert der agglutinierenden Kraft des Serums
			Tage		
1	Sakamoto	52	1	negativ	negativ
2	Saito	25	1	„	„

E. Versuch mit den Seris von Choleratyphoidfällen.

Die zu dieser Gruppe gehörenden Fälle gingen meist nach dem Stadium algidum unter typhusähnlichen Erscheinungen wie Steige-

[1]) Amako, Centralblatt f. Bakt. Bd. 48, 1908.

rung der Körpertemperatur, Delirien, Somnolenz u. a. zugrunde. Es wurden nur 3 Fälle auf die komplementbinde Kraft ihrer Seren geprüft. Die Resultate waren jedesmal gleich negativ. Agglutinationsversuche mit den Seris resultierten ebenfalls gleich negativ, in Bestätigung einer früheren Angabe von Amako.

Tabelle V. Choleratyphoidfälle.

Nr.	Name	Alter Jahre	Dauer der Erkrankung bis zur Blutentleerung	Titerwert der komplementbindenden Kraft des Serums	Titerwert der agglutinierenden Kraft des Serums
			Tage		
1	Tahara	26	8	negativ	negativ
2	Fukumoto	52	5	"	"
3	Fujii	33	7	"	"

Der Übersicht halber sind die Ergebnisse der Tabellen I—V in nachstehender Tabelle VI zusammengestellt.

Tabelle VI.

Krankheitsform	Komplementbindung		Agglutination	
	positiv	negativ	positiv	negativ
Träger	5 (29,4 %)	12 (70,6 %)	6 (35,2 %)	11 (64,7 %)
Leichtere Fälle	15 (44,1 %)	19 (55,8 %)	25 (73,5 %)	9 (26,4 %)
Mittelschwere und schwere Fälle	20 (71,4 %)	8 (28,5 %)	26 (92,8 %)	2 (7,1 %)
Foudroyante Fälle	—	2 (100 %)	—	2 (100 %)
Typhoidfälle	—	3 (100 %)	—	3 (100 %)

Der Prozentsatz der positiv reagierenden Fälle war bei den Choleraträgern ein geringer. Bei den mittelschweren und schweren Fällen war derselbe bedeutend höher als bei den leichten Fällen.

Was nun die Titerwerte der beiden Reaktionen, Komplementbindung und Agglutination, anbetrifft, so findet man, daß dieselben auch bei den mittelschweren und schweren Fällen meist höher sind als bei den leichten Fällen und den Bazillenträgern.

Sowohl bei den leichten Fällen als auch bei den mittelschweren und schweren Fällen fielen die Komplementbindungs- und Agglutinationsreaktionen meist parallel aus. Nur bei einigen Fällen bestand zwischen den beiden Reaktionsarten kein Parallelismus, wie aus den Tabellen I—V zu ersehen ist.

II. Das spezifische Antigen in Cholerafäces.

Nedrigailoff[1]) hat schon gezeigt, daß Cholerafäces spezifische Antigene enthalten, die durch die Komplementbindung in Gegenwart eines Choleraimmunserums nachgewiesen werden können. Bei der letzten Choleraepidemie in Kobe haben wir auch zahlreiche Cholerafäces in dieser Richtung untersucht.

Die Versuchsanordnung war folgende:

Es wurden flüssige reiswasserartige Cholerafäces, die zahlreiche Vibrionen enthielten, zentrifugiert. Der so erhaltene klare Abguß wurde als Antigen in Anwendung gebracht. Als Komplement haben wir frisches Meerschweinchenserum 1:10 benutzt. Das Choleraimmunserum wurde von einem durch mehrmalige Vorbehandlung mit mehreren (3 bis 4) Cholerastämmen hochwertig immunisierten Kaninchen gewonnen. Dieses polyvalente Serum war in der Tat dem monovalenten Serum stark überlegen.

Der Abguß des Stuhles wurde zunächst auf seine eigenen hemmenden Eigenschaften geprüft. Für den Hauptversuch kam die Hälfte oder ein Drittel derjenigen Menge, die keine eigene Hemmung mehr erkennen ließ, als Maximalmenge in Anwendung. Wir setzten stets zu dieser Maximalmenge und zu fallenden Mengen des Abgusses des Stuhles gleichbleibendes Choleraimmunserum. Das hämolytische Serum wurde in der 4 bis 5 fach lösenden Dosis und mit je 1 ccm einer 5 %igen Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen vermischt.

Die einzelnen Reagentien enthielten 1 ccm, jedes Röhrchen enthielt somit 5 ccm.

In den hier folgenden Tabellen VIIa und b zeigen wir die Komplementbindung mit einem typischen Cholerastuhl, die zahlreiche Vibrionen enthält.

Tabelle VIIa (Vorversuch).

Nr.	Abguß des Stuhles	Komplement 1 : 1	0,85 % Kochsalzlösung		Hämolysin (5 fach lösende Dosis)	Hammelblutkörperchen 5%	Resultat nach 2 Std.
1	1,0 ccm	1,0 ccm	1,0	1 Std. bei 37°	1,0 ccm	1,0 ccm	schwache Hämolyse
2	0,8 „	1,0 „	1,2	„	1,0 „	1,0 „	inkomplette Hämolyse
3	0,6 „	1,0 „	1,4	„	1.0 „	1,0 „	komplette Hämolyse

[1]) Nedrigailoff, Zeitschrift für Immunitätforschung, Bd. III. 1909.

Nr.	Abguß des Stuhles	Komplement 1 : 10	0,85 % Kochsalzlösung		Hämolysin (5 fach lösende Dosis)	Hammelblutkörperchen 5 %	Resultat nach 2 Std.
4	0,4 ccm	1,0 ccm	1,6	1 Std. bei 37°	1,0 ccm	1,0 ccm	komplette Hämolyse
5	0,2 „	1,0 „	1,8	„	1,0 „	1,0 „	komplette Hämolyse
6	0,1 „	1,0 „	1,9	„	1,0 „	1,0 „	komplette Hämolyse
7	—	1,0 „	2,0	„	1,0 „	1,0 „	komplette Hämolyse
8	1,0 „	—	2,0	„	—	1,0 „	keine Hämolyse

Es zeigte also der Abguß des geprüften Stuhles in einer Menge von 0,6 ccm keine eigene Hemmung mehr. Für den Hauptversuch wurde ein Drittel derselben Menge, d. h. 0,2 ccm, als Maximalmenge in Anwendung gebracht.

Tabelle VIIb (Hauptversuch). Komplementbindungsversuch mit einem Cholerastuhl.

Nr.	Abguß des Stuhles	Komplement 1 : 10	Cholera-immunserum		Hämolytisches Serum (5-fach lösende Dosis	Hammelblut (5 %)	Resultat nach 2 Std.
1	0,2 ccm	1,0 ccm	0,1 ccm	1 Std. bei 37°	1,0 ccm	1,0 ccm	komplette Hemmung
2	0,1 „	1,0 „	0,1 „	„	1,0 „	1,0 „	komplette Hemmung
3	0,05 „	1,0 „	0,1 „	„	1,0 „	1,0 „	komplette Hemmung
4	0,02 „	1,0 „	0,1 „	„	1,0 „	1,0 „	inkomplett gelöst
5	0,01 „	1,0 „	0,1 „	„	1,0 „	1,0 „	kompl. gelöst
6	0,4 „	1,0 „	—	„	1,0 „	1,0 „	„ „
7	—	1,0 „	0,2 „	„	1,0 „	1,0 „	„ „
8	—	1,0 „	—	„	1,0 „	1,0 „	„ „
9	0,4 „	1,0 „	normales Kaninchenserum 0,2 ccm	„	1,0 „	1,0 „	„ „

Wie aus dieser Tabelle zu ersehen ist, enthält der geprüfte Abguß des Stuhles spezifische Antigene, deren Titerwert 0,05 ccm betrug.

Durch unsere in dieser Richtung ausgeführten zahlreichen Untersuchungen haben wir festgestellt, daß der Antigengehalt im Cholerastuhl desto höher war, je typischer der Stuhl aussah. In breiigem oder normal geformtem Stuhl, in dem nur sehr wenige Vibrionen enthalten waren, konnten wir nur spärlich oder gar kein Antigen nachweisen.

III. Über den Wert der Komplementbindung mit Fäces für die rasche serologische Choleradiagnose.

Es ist ja eine bekannte Tatsache, daß die Vorteile der Prophylaxe gegen die Cholera desto leichter und desto ausgesprochener zutage treten, je rascher eine Diagnose mit Sicherheit festgestellt wird. Die bisher übliche Methode, die Choleradiagnose festzustellen, besteht darin, die Vibrionen in Fäces mikroskopisch aufzufinden, eine Reinkultur anzulegen und dieselbe durch ein spezifisch agglutinierendes und bakteriolytisches Serum nachzuprüfen. Auf diesem Wege ist aber selbst in den günstigsten Fällen eine sichere Diagnose erst nach frühestens 18 bis 48 Stunden möglich. Da wir im Hinblick auf die Prophylaxe gezwungen waren die lange Dauer der bakteriologischen Untersuchung zu vermeiden, versuchten wir durch Anwendung der Komplementbindung mit Fäces ein diagnostisches Urteil über die Cholera bei vielen Fällen in allerkürzester Zeit zu gewinnen. Wie aus dem obigen II. Abschnitt dieser Arbeit hervorgeht, enthielten die Cholerafäces spezifische Antigene, und zwar in um so höherem Gehalt, je typischer der Stuhl aussah und je zahlreicher seine Vibrionen waren. In dem breiigen oder geformten Stuhle, der nur sehr wenige Vibrionen enthielt, konnte man nur wenig oder gar kein Antigen nachweisen. Es wurde in einem solchen Falle zuerst eine Anreicherungskultur in Peptonwasser angelegt. Nach 6 bis 10 Stunden langem Verweilen in Thermostaten bei 37° C wurde die obere Schicht der Kultur, in der sich die Choleravibrionen stark vermehrten, abpipettiert. Die so erhaltene schwach getrübte Flüssigkeit wurde als Antigen zu Komplementbindungsversuchen benutzt. In dieser Weise konnten wir bei vielen Fällen spezifische Choleraantigene nachweisen, selbst wenn die Fäces nur spärlich Choleravibrionen enthielten.

Das Peptonwasser, das zur Anreicherungskultur der Choleravibrionen verwendet wurde, wurde folgendermaßen hergestellt:

1 Liter destilliertem Wasser wurden 10 g Witte-Pepton, 5 g Kochsalz und 1,5 g Natriumcarbonat zugesetzt. Das Ganze wurde in der Wärme gelöst, filtriert, in Kölbchen von je 100 ccm verteilt und sterilisiert.

Als Beispiel zeigen wir im Folgenden die in dieser Richtung ausgeführten Versuche mit verschiedenen Cholerafällen. Es wurden die Versuche stets unter Anwendung des oben erwähnten hochwertigen polyvalenten Choleraimmunserums in derselben Weise ausgeführt, wie in den Fällen der Tabellen VIIa und b.

a) Fälle mit typischen oder fast typischen wässerigen Fäces, die zahlreiche oder ziemlich zahlreiche Vibrionen enthielten.

Bei diesen Fällen konnten wir sehr leicht direkt in den Abgüssen der Fäces spezifische Choleraantigene nachweisen. In der Tabelle VIII wird der Titerwert der Komplementbindungsfähigkeit des Abgusses des Stuhles im Vergleich mit derjenigen Menge des Abgusses, die keine eigene Hemmung mehr erkennen läßt, gezeigt.

Tabelle VIII. Komplementbindung mit den Abgüssen der Cholerastühle.

Nr.	Name	Erkrankungsform	Charakter des Stuhles und dessen mikroskopischer Befund	Menge des Abgusses, die keine eigene Hemmung mehr zeigt	Titerwert der Komplementbindungsfähigkeit des Abgusses des Stuhles
1	Saito	Schwerer Fall	Reiswasserartiger Stuhl; zahlreiche Vibrionen	0,3 ccm	0,05 ccm
2	Sakayuchi	"	"	0,3 "	0,1 "
3	Inouye	"	"	0,4 "	0,01 "
4	Ikesawa	"	Gelblich gefärbter wässeriger Stuhl; reichliche Vibrionen mit wenigen Bazillen	0,5 "	0,02 "
5	Fujii	"	Gelblich gefärbter flüssiger Stuhl; zahlreiche Vibrionen mit ziemlich zahlreichen Bazillen	0,4 "	0,05 "

In dieser Weise konnten wir schon nach 7 bis 8 Stunden die Resultate der Versuche feststellen. Die in gewöhnlicher Weise mit

demselben Stuhle ausgeführten bakteriologischen Untersuchungen bestätigten stets diesen Befund.

b) Fälle mit breiigen Fäces, die wenige Vibrionen enthielten.

Es wurden bei diesen Fällen einerseits mit dem direkten Abguß des Stuhles, andererseits mit Peptonwasseranreicherungskultur Komplementbindungsversuche ausgeführt. Direkter Abguß wurde in der Weise hergestellt, daß breiiger Stuhl mit 2 bis 3 facher Volummenge einer 0,85 % igen Kochsalzlösung verdünnt, 10 Minuten lang in einem Schüttelapparat geschüttelt und dann zentrifugiert wurde. Anreicherungskultur wurde auch in der oben beschriebenen Weise hergestellt.

Tabelle IX. Versuche mit breiigen Stühlen.

Nr.	Name	Erkrankungsform	Charakter des Stuhles und dessen mikroskopischer Befund	Direkter Abguß des Stuhles		Obere Schicht der Anreicherungskultur	
				Menge, die keine eigene Hemmung mehr zeigte	Titerwert der Komplementbindungsfähigkeit	Menge, die keine eigene Hemmung mehr zeigte	Titerwert der Komplementbindungsfähigkeit
1	Yasuhara	Leichter Fall	Breiig; wenige Vibrionen	0,4 ccm	—	0,2 ccm	0,02
2	Miyake	„	„	0,5 „	—	0,3 „	0,05
3	Tahara	„	„	0,4 „	—	0,2 „	0,02
4	Konishi	„	„	0,6 „	—	0,2 „	0,05
5	Sakamoto	„	„	0,5 „	—	0,2 „	0,02

Wie aus vorstehender Tabelle zu ersehen ist, konnten wir in den direkten Abgüssen der breiigen Stühle, die nur sehr wenige Vibrionen enthielten, kein nennenswertes Choleraantigen nachweisen. Wohl aber zeigten die oberen Schichten der Anreicherungskulturen eine starke Komplementbindungsfähigkeit. In dieser Weise konnten wir nach 13 bis 17 Stunden die Resultate der Versuche aussprechen. Die bakteriologischen Versuche mit denselben Stühlen haben auch stets diesen Befund bestätigt.

Bei den Versuchen mit den Stühlen, die nur spärliche Choleravibrionen enthielten, haben wir beobachtet, daß die letzteren sich zuweilen in Peptonwasser sehr wenig vermehrten, obwohl man ein

ein richtig hergestelltes Nährmedium verwendete. Bei solchen Fällen konnten wir kein spezifisches Antigen in den oben beschriebenen Versuchen nachweisen.

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen kann man wohl den Schluß ziehen, daß die Komplementbindung mit Fäces für die rasche Choleradiagnose verwertbar ist. Es kann bei günstigen Fällen, wie die Tabellen VIII und IX zeigen, in der oben beschriebenen Weise schon in wenigen Stunden die Choleradiagnose gestellt werden, wenn in Hinblick auf die Prophylaxe das Resultat der gewöhnlichen bakteriologischen Untersuchung nicht abgewartet werden kann.

Zusammenfassung.

1. Es zeigten die Sera von den 17 Choleraträgern nur 5 mal eine positive Komplementbindung.

2. Die Sera der 34 leichten Fälle gaben 15 mal, die der 28 mittelschweren und schweren Fälle 20 mal, eine positive Komplementbindung.

3. Bei den foudroyanten Fällen sowie bei den Choleratyphoidfällen trat niemals eine nennenswerte positive Reaktion auf.

4. Der Titerwert der komplementbindenden und agglutinierenden Kraft des Serums war bei den mittelschweren und schweren Fällen meist höher als bei den leichten Fällen und bei den Trägern.

5. Die Komplementbindungs- und Agglutinationsreaktion fielen meist parallel aus, wenn auch bei wenigen Fällen zwischen den beiden Reaktionen kein Parallelismus bestand.

6. Die Cholerafäces enthalten spezifische Antigene und zwar um so mehr, je typischer der Stuhl aussieht und je zahlreicher er Vibrionen enthält.

7. Die Komplementbindung mit Fäces Cholerakranker ist für die rasche serologische Choleradiagnose verwendbar. Mit typischen Reiswasserstühlen gelingt es in kürzester Zeit mittels der Komplementbindung die Choleradiagnose zu stellen; bei breiigen und festen Vibrionenhaltigen Stühlen ist eine Peptonwasseranreicherung erforderlich, mit der es fast regelmäßig gelingt nach 13—17 Stunden die Diagnose mit Sicherheit zu stellen.

Aus der Universitäts-Augenklinik in Halle a. S.
Direktor Prof. Dr. E. v. Hippel.

Zur Frage der toxischen Wirkung des Salvarsans.

Von

Priv.-Doz. Dr. **Jos. Igersheimer**
Oberarzt der Klinik.

Noch immer gibt es eine Anzahl von Forschern, die das Salvarsan auch in der jetzt üblichen Dosierung für ein erheblich differentes Mittel halten und die vor allem die vielbesprochenen Erscheinungen an den Sinnesorganen, die „Neurorezidive" der Luetiker ganz oder teilweise auf eine toxische Wirkung des Salvarsans beziehen. Für eine solche Anschauung wäre zweifellos eine experimentelle Grundlage von großer Wichtigkeit, und eine solche findet sich anscheinend in einer mir erst jetzt bekannt gewordenen Veröffentlichung des Italieners Grignolo[1]). Dieser Autor machte an 6 Kaninchen Salvarsanversuche; und während er bei den letzten 4 Tieren trotz mehrmaliger subkutaner Injektionen weder intra vitam noch später mikroskopisch an den Augen etwas Krankhaftes feststellen konnte, beschreibt er bei 2 nur einmal und mit kleinen Mengen injizierten Kaninchen sehr erhebliche Veränderungen am Auge. Die Tiere gingen nach profusen Diarrhöen — im ersten Falle nach 6 Tagen, im zweiten nach 20 Tagen — ein, ohne während des Lebens krankhafte Erscheinungen an den Augen dargeboten zu haben. Den Tod der Tiere bringt der Autor mit der Salvarsaninjektion in direkten Zusammenhang, während ich auf Grund meiner toxikologischen Untersuchungen[2, 3]) der festen Überzeugung bin, daß dem Salvarsan dabei keine Schuld beizumessen ist.

Grignolo ist wohl in dieser Beziehung ebenso das Opfer eines Irrtums geworden wie bei der Beurteilung der mikroskopischen

---

[1]) Grignolo, Dell influenza del „606" sul occhio. Pathologica **1911**, August.

[2]) Igersheimer, Experim. u. klinische Untersuchungen mit d. Dioxydiamidoarsenobenzol usw. Münch. med. W. 1910 Nr. 51.

[3]) Igersheimer, Bericht über d. XXXVII. Vers. d. ophthalm. Ges. Heidelberg 1911.

Bulbusveränderungen, auf die ich nunmehr kurz eingehen möchte. Der italienische Forscher hat mir auf meine Bitte seine Präparate freundlicherweise zur Verfügung gestellt, und aus diesen läßt sich unzweifelhaft erkennen, daß die sogenannten krankhaften Veränderungen entweder postmortale Erscheinungen sind oder durch fehlerhafte Schnittrichtung (Schrägschnitte) Veränderungen vortäuschen, wo es sich in der Tat nicht um solche handelt. Die Auflockerung der Netzhautschichten, die von ihm als „Ödem“ angesprochen wird, der Zerfall der Stäbchen und Zapfen usw. sind Erscheinungen, die in jedem nicht lebenswarm fixierten Auge mehr oder weniger stark zur Beobachtung kommen. Nach dem eigenen Bericht des Autors wurden aber die Bulbi des ersten Kaninchens $1^1/_2$ Stunden, die des 2. mehrere Stunden nach dem Tod erst enukleiert. Ebenso sind die als Lymphocyten gedeuteten Elemente nichts anderes als die postmortal geschrumpften, homogenisierten äußeren und inneren Körner der Retina. Gewiß kommt eine derartige Homogenisation auch als Zeichen der Degeneration bei Giftwirkung vor — ich habe sie selbst in meiner Arbeit[1]) über die Wirkung des Atoxyls auf das Auge abgebildet — aber als intra vitam bestandene Veränderung kann sie nur bei lebenswarm fixierten Objekten anerkannt werden.

Ebensowenig haltbar ist die Deutung, die der Autor Stellen zukommen läßt, wie er sie in Figur 7 seiner Arbeit abbildet. Da handelt es sich nicht, wie er meint, um massenhafte, knötchenartig angeordnete Zellinfiltrationen, sondern um die schräg getroffene und daher flach wiedergegebene äußere Körnerschicht.

Die Faltenbildung der Retina, die Schicht auf der Innenfläche der Netzhaut usw. usw. sind nicht die Folge einer toxischen Wirkung, sondern einer unzweckmäßigen Behandlung der Bulbi post mortem.

Da ich bisher die Ergebnisse meiner eigenen Tierversuche auf diesem Gebiet nur ganz allgemein wiedergegeben habe, so benutze ich die Gelegenheit zu einer knappen Protokollwiedergabe derselben in Tabellenform.

Aus der Tab. 1 geht hervor, daß Kaninchen sich dem Salvarsan gegenüber recht resistent verhalten, weder allgemeine Intoxikationszeichen aufweisen noch im besonderen Degenerationsphänomene an den nervösen Bestandteilen des Auges zeigen, selbst bei häufiger Injektion nicht unerheblicher Dosen.

---

[1]) Igersheimer, Über die Wirkung des Atoxyls auf d. Auge. v. Graefes Arch. f. Ophth. Bd. 71. 1909.

Tabelle I. Kaninchen.

Tier	Gewicht	Ort der Injektion	Einzeldosis	Wie viele Injektionen?	Erscheinungen während des Lebens	Netzhaut mikroskopisch	Sehnerv mikroskopisch	Arsen-Nachweis im Bulbus (Marsh-Probe)	Bemerkungen
H_1	1950 g	intramuskulär	0,075 g = 0,037 g pro kg	7 mal in 17 Tagen	Dauernd normal	Normal	Normal	Im rechten Bulbus + Opticus positiv	Getötet. Lebenswarme Fixierung des Bulbus
H_3	2000 g	intravenös	"	"	"	"	"	negativ	"
H_6	1650 g	intravenös	0,05 g = 0,031 g pro kg	"	"	"	"	"	"
H_7	1970 g	intramuskulär	0,05 g = 0,025 g pro kg	"	"	"	"	"	"
H_2	1650 g	intramuskulär	0,075 g = 0,045 g pro kg	11 mal in 1 Monat	"	"	"	"	"
H_5	1600 g	intravenös	0,04 g = 0,025 g pro kg	7 mal in 26 Tagen	"	—	—	—	—
VIII	2110 g	subkut. u. intravenös	0,08 g und 0,04 g	je einmal	"	—	—	negativ	—
X	1680 g	"	0,05 g und 0,02 g	"	"	—	—	Bulbi negativ	—
XIV		"	0,05 g und 0,15 g	2 mal intravenös, 1 mal subkutan	"	—	—	Bulbus: Spur As	"
XXXIIa	2570 g	"	0,1 g und 0,05 g	1 mal intravenös, 1 mal subkutan	"	—	—	Bulbi negativ	—

Tabelle II. Katzen.

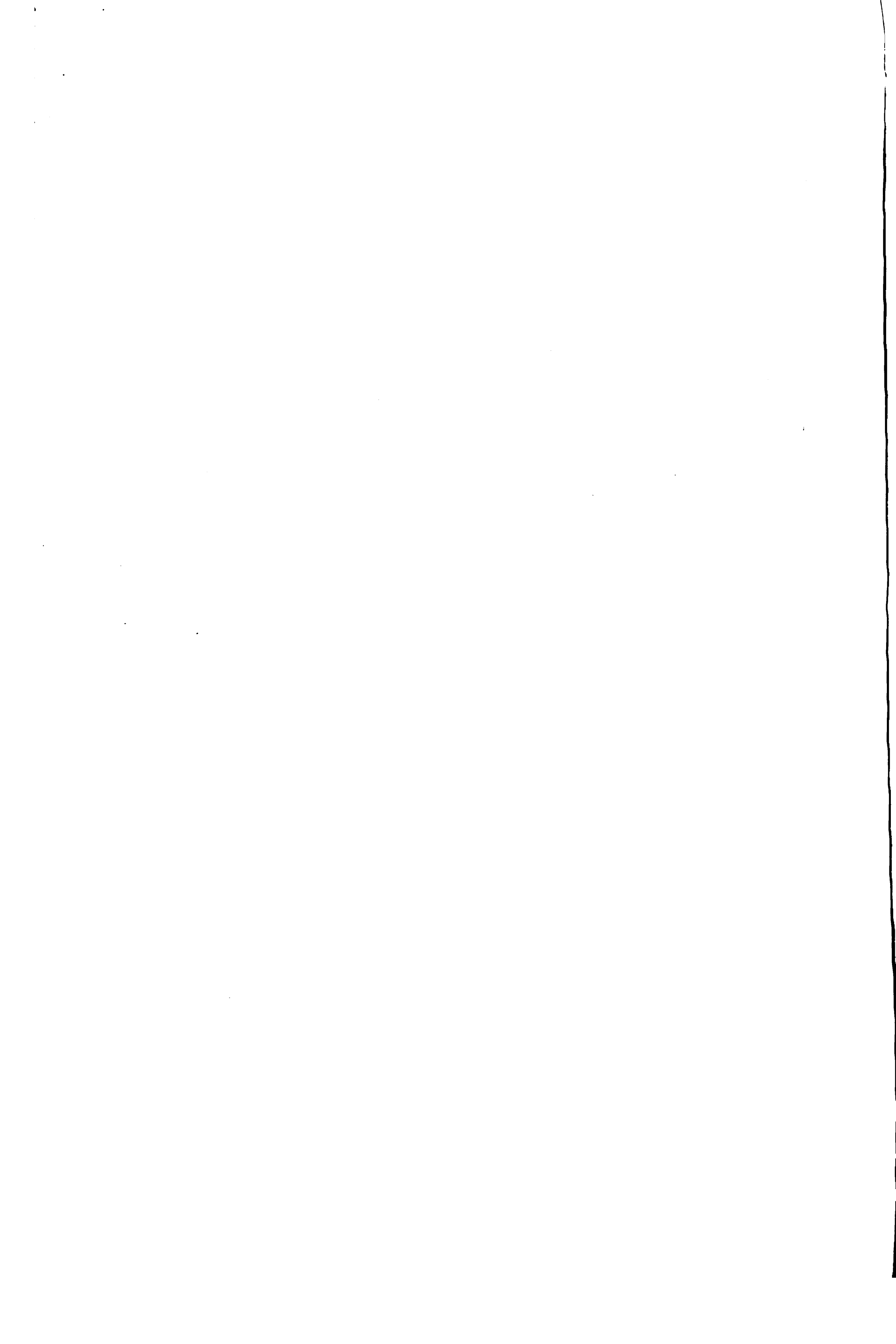
Tier	Gewicht	Ort der Injektion	Einzeldosis	Wie viele Injektionen?	Erscheinungen während des Lebens	Netzhaut (mikroskopisch)	Sehnerv (mikroskopisch)	Arsen-Nachweis im Bulbus (Marsh-Probe)	Bemerkungen
1	1350 g	intramusk. und subkutan	0,2—0,25 g = 0,15 g pro kg	6 mal in 11 Tagen, getötet	Nach 5 Injekt. weniger munter, sonst normal. Augen: o. B.	Zelldegeneration an den Ganglienzellen und den Körnerschichten. Beginnender Zerfall der Stäbchen und Zapfen.	Spärliche Marchi-Degeneration	positiv im Bulbus + Opticus	L. Bulbus lebenswarm in modifiz. Zenkerlösung fixiert
2	8 Wochen alt	„	0,1—0,3 g	10 mal in 16 Tagen	Immer normal, zuletzt etwas struppig, plötzlicher Tod.	—	—	positiv in Bulbi + Optici	Lebenswarme Fixierung der Bulbi nicht möglich, deshalb keine mikroskop. Untersuchung
3	3200 g	„	0,1 g = 0,03 g pro kg	8 mal in 30 Tagen	Allmähliche Abmagerung: nach 8 Injektionen beginnender Haarausfall an zirkumskripten Stellen und sonstige trophische Störungen. Plötzlicher Tod.			negativ. † 20 Tage nach der letzten Injektion	„

Tabelle II. Katzen.

Tier	Gewicht	Ort der Injektion	Einzeldosis	Wie viele Injektionen?	Erscheinungen während des Lebens	Netzhaut mikroskopisch	Sehnerv mikroskopisch	Arsen-Nachweis im Bulbus (Marsh-Probe)	Bemerkungen
4	2390 g	subkutan	0,05 g = 0,02 g pro kg	13 mal in 2 Monaten	Allmähliche mäßige Abmagerung. Haarausfall an den verschiedensten Stellen, stets zirkumskript. Getötet.	Sehr geringe Zelldegeneration	Schwache, aber sichere Marchi-Reaktion	—	Lebenswarme Fixierung der Bulbi
5	2370 g	subkutan	0,025 g = 0,01 g pro kg	10 mal in 34 Tagen	Nach 10 Injekt. Abnahme der Freßlust, Unsicherheit auf den Beinen	Zelldegeneration bes. in der inneren Körnerschicht (Homogenisation)	Mittelstarke Marchi-Reaktion	—	Tier tot, aber noch lebenswarm im Stall vorgefunden, retinaler Befund deshalb nicht ganz einwandfrei
Hund	5250 g	subkutan	0,2—0,45 g = 0,04—0,09 g pro kg	5 mal in 10 Tagen	Abmagerung. Tod.	Normal	Normal	positiv	Bulbi am toten, aber noch lebenswarmen Tier enukleiert

Tab. 2 zeigt, daß auch Katzen häufige und hohe Dosen Salvarsan ohne jede Reaktion vertragen, bei weiterer Applikation aber abmagern und oft plötzlich zugrunde gehen. Bei chronischer Vergiftung stellte sich Haarausfall an zirkumskripten Körperstellen ein wie bei anorganischer Arsenvergiftung. Dann konnte man auch am Opticus eine typische Schwarzfärbung der Markscheiden („Marchi-Reaktion") konstatieren. Haarausfall und Marchi-Reaktion sind nach eignen früheren Befunden mit großer Wahrscheinlichkeit auf die Wirkung abgespaltenen anorganischen Arsens zu beziehen. Katzen sind gegen Arsenpräparate zweifellos ganz besonders empfindlich. — An der Netzhaut fand sich nur bei subakuter Vergiftung mit sehr hohen Dosen (Katze 1) eine erhebliche, bei chronischer Intoxikation dagegen nur geringe Degeneration.

Bei einem Hund, der 5 mal recht große Mengen Salvarsan kurz hintereinander erhielt und einging, deckte die mikroskopische Untersuchung normale Verhältnisse am Auge auf.



Die vitale Reaktion nach Gosio beim Tuberkelbazillus.

Von

Prof. Dr. **S. Belfanti,**

Vorstand des Serotherapeutischen Institutes zu Mailand.

Mit zwei Textabbildungen.

Die neueren Untersuchungen von Wassermann und Keysser über Krebsbehandlung bei Mäusen, haben die vitale Reaktion von Gosio wieder zu Ehren gebracht.

Als Indikatoren des Überlebens der Krebszelle verwenden diese Forscher Natriumtellurite und Selenite, eben dieselben, welche zu diesem besonderen Zwecke bereits von unserm Gosio vorgeschlagen wurden.

Wie aus den schönen Studien dieses italienischen Forschers hervorgeht, werden die Metalle dieser Salze in Gegenwart lebender Zellen, durch Reduktion, in Form eines schwärzlichen oder rötlichen Niederschlages gefällt, je nachdem die Versuche mit Tellurium- oder Seleniumsalz durchgeführt werden.

Die Niederschlagbildung geht nicht außerhalb der lebenden Zelle vor sich, sondern, dank eines Resorptions- und darauffolgenden Reduktionsprozesses, in der Zelle selbst, so daß dieselbe sich mit Metall sättigt und einen schwärzlichen oder auch ganz schwarzen Farbenton annimmt.

Bei der Bakterienzelle ist diese Erscheinung noch ausgesprochener. Nach den von Gosio und später von Giorgi und Pergola gemachten Beobachtungen ist hierbei die Reduktion an das Leben und die Entwicklung des Bakteriums gebunden: es wird das Salz assimiliert und in einen metallischen Zustand übergeführt, wobei die Bakterienzelle eine schwärzliche Färbung annimmt als ein Zeichen, daß der Organismus lebt und sich vermehrt hat.

Diese Reaktion, ein Indikator des Bakterienlebens, wurde von Gosio praktisch verwendet um festzustellen, ob eine bestimmte Flüssigkeit sicher keimfrei ist, oder aber lebensfähige Mikroorganis-

men enthält, die imstande sind, das Substrat, in dem sie sich entwickeln, zu verändern, und Schädigungen hervorzurufen, falls eine solche Flüssigkeit zu medizinischen Zwecken, besonders zu subkutaner Einführung bei Mensch und Tier, Anwendung findet.

Auf Grund des Vermögens eine vitale Reaktion auszulösen, nennt Gosio die Tellurite und Selenite „Enthüller der Verunreinigungen".

Da diese Methode bei vielen zu subkutanen Injektionen bestimmten Präparaten des von mir geleiteten Serotherapeutischen Institutes zu Mailand Anwendung findet, hatte ich reichlich Gelegenheit mich von dem bedeutenden Wert der Gosioschen Methode, von ihrer großen Empfindlichkeit und unübertrefflichen Zuverlässigkeit zu überzeugen.

Das Fehlen der vitalen Reaktion seitens eines Mikroorganismus kann von zwei Faktoren abhängen: von dem Tod desselben oder von der Unterbrechung seiner Lebensäußerungen durch Latenz; mit andern Worten, es besitzt der Keim entweder keine vitalen Stoffwechselvorgänge und ist nicht mehr imstande sich zu vermehren, so daß er abstirbt, oder aber es ist der vitale Stoffwechsel durch einen Zustand von Trägheit so gut wie unterbrochen, wie das bei Sporen besitzenden Bakterien der Fall zu sein pflegt.

Die Bakterienspore als solche reagiert in der Tat nicht: das in ihr geborgene latente Leben wird von diesem Indikator des Bakterienlebens nicht angezeigt; kaum kommt aber ihr Stoffwechsel zum Vorschein, d. h. es beginnt die Spore zu keimen, so wird das Telluriumsalz resorbiert und reduziert.

Je energischer die Vitalität des Keimes, desto aktiver der Zersetzungsvorgang, so daß man behaupten kann, es sei das Tellurit in der Tat der wahre Indikator der vitalen Reaktion der Bakterien.

Zur Telluriumreaktion ist es demnach erforderlich, daß die Keime sich entwickeln, oder, falls die Entwicklung bereits stattgefunden hat, daß sie einen aktiven Stoffwechsel aufweisen. Der Indikator des Bakterienlebens könnte uns somit über zwei Phasen desselben aufklären, in deren einer das Bakterium sich entwickelt, während in der andern die Zelle ihr vollständiges Wachstum bereits erreicht hat, aber noch fortfährt, einen regen Stoffwechsel aufzuweisen.

In diesem Sinne nahm ich mir vor, die vitale Reaktion beim Bazillus der Tuberkulose zu verfolgen.

Wir wissen schon aus den Untersuchungen von Gosio, daß

sich unter den zahlreichen Mikroorganismen die mit dem Tellurit reagieren, alle pathogenen Keime befinden, also auch der Tuberkelbazillus; Gosio beschränkt sich aber darauf ihn zu zitieren und verzichtet auf ein eingehendes Studium dieses höchst interessanten Keimes, dessen Biologie auf allen andern Gebieten ausführlich bearbeitet wurde.

Züchten wir den Kochschen Bazillus auf einem Nährboden der in einem dem Keime nicht schädlichen Verhältnis Tellurit enthält (1:25000 — 1:50000), also in einer Verdünnung die, wie wir aus Erfahrung wissen, das Wachstum der Keime nicht beeinträchtigt, so beobachten wir, daß derselbe nach und während seiner Entwicklung an der Oberfläche, dank seines direkten spezifischen Vermögens, das Salz reduziert und dabei einen schwärzlichen Farbenton annimmt.

Wir befinden uns hier in den von Gosio beobachteten Verhältnissen, in denen die stattfindende Entwicklung durch die Zersetzung des Salzes und die daran gebundene Farbenreaktion angezeigt wird.

Es interessiert mich nun festzustellen, ob auch die voll entwickelte Kultur, in der der Mikroorganismus sein vollständiges Wachstum und Gleichgewicht erreicht hat, einer Lebenstätigkeit fähig ist und für wie lange Zeit.

Ich trug deshalb eine große Öse Tuberkelbazillen in einen Tellurit enthaltenden Nährboden ein und beobachtete dabei eine sehr ausgesprochene vitale Reaktion, so daß in weniger als 24 Stunden bei 37 Grad so viel Tellurium reduziert wurde, daß der Bakterienrasen ganz schwarz gefärbt war.

Diese Tätigkeit ist selbst bei Zimmertemperatur nicht unterbrochen, sondern nur desto mehr verzögert, je niedriger die Temperatur ist. Bei 15—16° vollzieht sich die Schwärzung langsam und kommt erst nach einigen Tagen zum Ausdruck; auf Eis wird sie noch mehr verzögert, kommt aber immerhin zustande. Es kommt demnach das Reduktionsvermögen der in den Bakterien vorhandenen Substanzen innerhalb sehr weiter Temperaturgrenzen zur Geltung.

Solche Resultate zeigen, daß auch vollkommen entwickelte Keime noch eine besondere Affinität zum Telluriumsalz und ein ausgesprochenes Reduktionsvermögen an den Tag legen, ein Beweis, daß zwischen Bakterium und Nährmilieu ein reger Stoffwechsel stattfindet.

Es schien mir von Interesse, die Bedeutung dieses elektiven

Resorptionsvermögens zu studieren und festzustellen, ob den Bakterien in ihrer Affinität eine Grenze gesteckt ist, d. h. ob sie unaufhaltsam in dieser Intoxikation weitergehen, oder vielmehr die das Tellurium bindenden Rezeptoren ein begrenztes, dem Leben der Keime verträgliches Reduktionsvermögen besitzen.

Die Frage ist, begreiflicher Weise, von großem Interesse zumal mit Rücksicht auf die neuen Ansichten von Ehrlich über die Chemotherapie, deren Anwendung z. B. bei der Behandlung der Spirillosen und der Syphilis mit Arsenpräparaten die Richtigkeit der theoretischen Anschauungen bewiesen hat.

Bei den Untersuchungen über die Wirkung der verschiedenen Arsenverbindungen auf die Spirillen bleibt der Nachweis von Wirkung und Resorption einzig auf den biologischen Tierversuch beschränkt, d. h. auf das Verschwinden der Spirillen aus den Geweben.

Die vitale Reaktion nach Gosio ermöglicht es in vitro den Verlauf der Erscheinungen zu verfolgen, da es sich dabei um eine Farbenreaktion und demnach um eine sichtbare Reaktion handelt.

Wie schon von Gosio nachgewiesen, hat der Zusatz hoher Dosen Tellurits zu den Nährböden eine toxische Wirkung auf die Bakterien, so daß sie in ihrem Wachstum gehemmt werden; viele Keime zeigen sich schon gegenüber einem Zusatz von Tellurit im Verhältnis von 1:10000 empfindlich und es wird infolge Absterbens der Bakterien das Wachstum desto bedeutender gehemmt je mehr der Zusatz über dieses Verhältnis hinaus erhöht wird.

Es entstand nun die Frage ob eine hohe Telluriumdosis, wie z. B. 1 % oder 1 ‰, die jedes Bakterienwachstum hemmt, auch gleichzeitig das Reduktionsvermögen unterbricht.

Wird eine Öse lebender Typhusbazillen auf einen, mit solch hohen Telluriumdosen beschickten Nährboden gebracht und bei 37° gehalten, so erscheint in weniger als 4 Stunden ein schwarzer Fleck.

Der Überschuß an Telluriumsalz hat demnach den Keim nicht schnell genug abgetötet, um die Sättigung und Reduktion des Salzes zu verhindern.

Die Reduktion schädigt jedoch die Lebensverhältnisse des so behandelten Keimes, so daß er bei Übertragung in einen geeigneten Nährboden sich nicht weiter entwickelt oder doch nur in spärlichen Kolonien wächst, ein Zeichen, daß die meisten Bakterien abgetötet wurden.

Einzelne Keime können aber auch einer energischen Intoxika-

tion mit hohen Telluriumdosen entgehen. Die Ehrlichsche therapia sterilisans magna zeigt sich demnach in ihren Hauptlinien als zutreffend; es gelingt aber, ihrer ungeachtet, einigen Keimen sich der beabsichtigten Intoxikation mit hohen Giftdosen zu entziehen, so daß damit der Samen zu weiteren Rezidiven gelegt ist.

Die Tuberkelbazillen sättigen sich in diesen stark tellurisierten Nährmilieus geradeso wie die Typhusbazillen.

Es besitzen also diese Salze ein ausgesprochenes bakteriotropes Vermögen und sie könnten demnach den Ausgangspunkt zu neuen medikamentösen Präparaten im Sinne von Ehrlich bilden.

Die Telluriumreduktion erleidet im Einklang mit den Lebensverhältnissen des Mikroorganismus eine Abschwächung und verschwindet mit dem Tode des Keimes gänzlich.



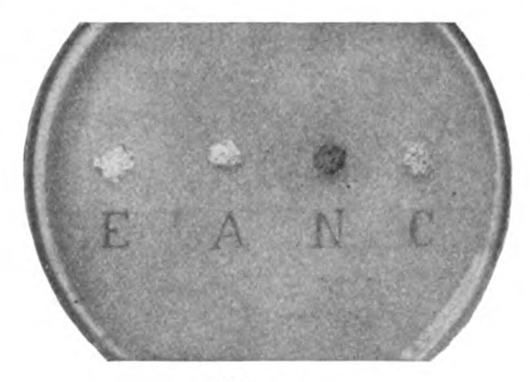
Figur 1.

So ist z. B. in Figur 1 die mit dem Altern der Kultur stattfindende Abnahme der Bakterientätigkeit veranschaulicht: Nr. 1 zeigt die Telluriumreduktion einer 24 Stunden alten Kultur des Smegmabazillus, Nr. 2 die gleiche Kultur nach 48 stündigem, Nr. 3 nach 10 tägigem, Nr. 4 nach 19 tägigem Wachstum.

Mit Hilfe dieser Reaktion können wir das unter dem Einfluß chemischer oder physikalischer Desinfektionsmittel vor sich gehende Verschwinden der Vitalität der Bazillen Schritt für Schritt verfolgen: die schwarze Färbung wird schwächer und schwächer bis sie endlich verschwindet; man überzeugt sich des antiseptischen Wertes der zu prüfenden Substanzen mit freiem Auge und ohne Zuziehung kultureller Proben, wie aus Figur 2 ersichtlich ist.

Im allgemeinen bleibt die Wirkung der Schizomyceten (Bakterien, Kokken, Spirillen, Vibrionen) auf das Telluriumsalz auf eine mehr oder weniger starke Reduktion beschränkt, ohne daß irgend ein Faktor für das gleichzeitige Bestehen eines synthetischen Prozesses spräche. Das gleiche scheint bei den Saccharomyceten der Fall zu sein.

Anders scheint sich nach Gosio der Sachverhalt zu gestalten, wenn das Tellurit mit höheren Organismen in Berührung kommt. So entfalten die Hyphomyceten neben einer reduzierenden Wirkung auch eine synthetische. Ich will hier nicht näher auf die interessanten Studien von Gosio über die Wirkung des Penicillium brevicaule beim Arsennachweis eingehen, und nur vorübergehend an die



Figur 2.

E = Einen Monat alte Kultur menschlicher Tuberkelbazillen die 10′ lange Ätherdämpfen ausgesetzt war.

A = Einen Monat alte Kultur menschlicher Tuberkelbazilllen die 10′ lange Acetondämpfen ausgesetzt war.

N = Einen Monat alte Kultur menschlicher Tuberkelbazilen nach 8 stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37°.

C = Einen Monat alte Kultur menschlicher Tuberkelbazillen die 10′ lange Chloroformdämpfen ausgesetzt war.

Eigenschaft dieses Schimmelpilzes erinnern Diäthylarsine (Arsen-Alkoholverbindungen) zu bilden, die vermöge eines ihnen eigenen charakteristischen Knoblauchgeruches den Nachweis selbst ganz geringer Arsenspuren ermöglichen.

Was das Arsen betrifft, so handelt es sich hier um eine spezifische Affinität in dem Sinne, als dem Penicillium brevicaule mehr als andern Schimmelpilzen das Vermögen eigen ist, sich mit Vor-

liebe mit Arsen zu sättigen und mit diesem flüchtige Verbindungen einzugehen.

Die übrigen Schimmelpilze, mit Ausnahme einer Mukorart und einiger Aspergillen, besitzen keine so ausgesprochene Affinität wie das Penicillium, das somit als Indikator oder Enthüller des Arsens angesehen wird.

Die Schimmelpilze aber, und demnach alle Hyphomyceten, sind den Tellurium- und Seleniumsalzen gegenüber ebenso gefräßig wie die Bakterien und vollziehen außerdem denselben synthetischen Prozeß wie das Penicillium dem Arsen gegenüber, d. h. sie bilden damit Alkoholverbindungen mit starkem knoblauchartigem Geruch, die im Gegensatz zu den Arsinen, Tellurine benannt werden.

Während aber, wie gesagt, dieses Vermögen beim Arsen vornehmlich einem einzigen Individuum vorbehalten ist, können nach Gosio alle Schimmelpilze dem Selenit und Tellurit gegenüber diesen synthetischen Prozeß entfalten, der hingegen bei den Schizomyceten oder Bakterien, sowie bei den Saccharomyceten unterbleibt.

Der Tuberkelbazillus kann außer den gewöhnlichen Stäbchenformen, mit oder ohne Vakuolen, mit oder ohne sporenähnlichen Körnchen, zuweilen noch besondere Formen aufweisen, welche für unsere Auffassungen des Tuberkuloseerregers, hinsichtlich seiner botanischen Stellung, sehr bedeutsam sind.

Nocard und Roux, Maffucci, Metchnikoff und andere fanden teils bei Hühner-, teils bei menschlicher Tuberkulose verlängerte und verzweigte Formen nach Art der Hyphen der Mycelpilze, wie sie bei Hyphomyceten und Aktinomyceten beobachtet werden.

Diese verzweigten Fäden, die nach den übereinstimmenden Beobachtungen vieler Forscher eine Eigentümlichkeit der Tuberkelbazillen darstellen, deuten darauf hin, daß man es im Tuberkelbazillus nicht mit einem einfachen Bakterium (Schizomyceten), sondern mit der parasitischen Form eines Fadenpilzes zu tun habe. Die Fadenformen sind danach nicht als Degenerationsprodukt, sondern als ein Rückschlag in die saprophytische (höhere) Wuchsform aufzufassen.

Diese Frage erfuhr eine wesentliche Ergänzung durch die Befunde von Babes, Levaditi und Friedrich usw. usw. Auf Grund dieser Ergebnisse ist eine nahe Gattungsverwandtschaft zwischen Tuberkulose, Aktinomykose und einigen säurefesten Pilzen, bei denen

teils in der Kultur, teils im Tierkörper ähnliche Formerscheinungen beobachtet wurden, nicht von der Hand zu weisen.

Diese Gruppe von Strahlenpilzen gehört nach Lachner-Sandoval nicht zu den Schizomyceten, sondern eher zu den Streptotricheen und sollte mit diesen in die Klasse der Hyphomyceten eingereiht werden. Gegen eine solche Systematisierung wird jedoch von Lubarsch der Einwand erhoben, daß beim Tuberkelbazillus und den verwandten Mikroorganismen das Vorkommen von Sporen noch nicht als sicher erwiesen gelten kann, weshalb er die Strahlenpilze als eigene Gattung zwischen Schizomyceten und Hyphomyceten stellt.

Wenn das Kriterium der Tellurium-Biosynthese Anspruch auf Bedeutung erheben kann, so liefert es für die Anschauung derjenigen Forscher eine mächtige Stütze, die auf Grund rein morphologischer Befunde dem Kochschen Bazillus eine größere Verwandtschaft zu den Hyphomyceten als zu den Schicomyceten zuschreiben.

Wird der Bazillus der Menschen-, Rinder- und Hühnertuberkulose auf tellurithaltigen Nährböden gezüchtet, so gibt er einen starken Knoblauchgeruch, der über das Vorhandensein von Tellurinen im Nährmilieu keinen Zweifel läßt. Der Chemismus des Tuberkelbazillus gegenüber dem Telluriumsalz spricht demnach für eine Artverwandtschaft mit den Schimmelpilzen.

Es wäre noch zu ermitteln, ob den Streptotricheen (Strahlenpilzen usw.) die gleiche Eigenschaft zukommt; soviel kann ich jedoch schon heute sagen, daß ein vom Menschen stammender Strahlenpilz unserer Sammlung keine Tellurine bildete. Unter den säurefesten Bazillen kommt es nicht, wie man annehmen sollte, bei allen zur Tellurinbildung; während dem Smegmabazillus diese Fähigkeit eigen ist, während man sie bei den verschiedenen Formen des Tuberkelbazillus antrifft, vermißt man sie z. B. beim Toblerschen Bazillus, wenigstens zeigte der im Institut vorhandene Stamm ein solches Verhalten.

Natürlich sind die Untersuchungen in diesem Sinne zu erweitern und zu vervollständigen.

Die Empfindlichkeit der Bakterien und der Hyphomyceten gegen diese Salze ist außerordentlich groß, so daß bei einem Verhältnis von 1:100000 die Reaktion noch sehr deutlich auftritt.

Die vitale Reaktion ist ein neuer Beweis dafür, daß die Mikroorganismen, obgleich winzig klein und aus nur einer Zelle bestehend, nicht, wie Omelionsky meint, als ein einheitliches chemisches

Reagens angesehen werden dürfen, sondern vielmehr als kleine Laboratorien, die je nach den Bestandteilen des Nährmilieus das eine oder andere Reaktiv betätigen; dem Biologen und Chemiker fällt die Aufgabe zu, diese Eigenschaften auszunützen, um jene Chemotherapie einzuleiten, die beim Kampfe gegen die Mikroorganismen von wirklichem Nutzen sein kann.

Schlußsätze.

Die lebenden Bazillen der Menschen-, Rinder- und Hühnertuberkulose reduzieren Kaliumtellurit stark und in wenigen Stunden.

Die Telluriumreaktion wird mit abnehmender Lebensenergie der Bazillen schwächer und sie verschwindet mit dem Tode des Keimes ganz.

Neben der reduzierenden Wirkung entfaltet der Tuberkelbazillus dem Telluriumsalz gegenüber auch einen synthetischen Prozeß, indem er Verbindungen bildet, die einen charakteristischen Knoblauchgeruch von sich geben (Tellurine).

Die Tellurine des Tuberkelbazillus sprechen zugunsten einer Artverwandtschaft dieses Keimes, nicht mit den echten Bakterien, sondern eher mit den Hyphomyceten.

Literatur.

Gosio, B., Studi sulle bioreazioni dell'arsenico, tellurio e selenio e loro applicazioni pratiche. 1907. Tip. delle Mantellate, Roma.

Derselbe, Sulla decomposizione di sali del tellurio per opera dei microrganismi. Rend. R. Accad. dei Lincei. Seduta del 24 aprile 1904.

Derselbe, Sulla decomposizione di sali di selenio per opera dei microrganismi. Rend. R. Accad. dei Lincei. Seduta del 4 giugno 1904.

Derselbe, I telluriti e seleniti come rivelatori d'inquinamenti batterici. Rend. R. Accad. dei Lincei, 6 agosto 1905.

Derselbe, Indikatoren des Bakterienlebens und ihre praktische Bedeutung. Zeitschrift f. Hygiene u. Infkr. Bd. 51. 1905.

Derselbe, Zur Methodik der Pestvaccinbereitung. Zeitschrift für Hygiene u. Infkr. Bd. 50. 1905.

Derselbe, Rivelatori biochimici degli inquinamenti microbici. IV Congresso Intern. di Chimica applicata. Roma 1906.

Giorgi, M., Sull'accertamento e garanzia della sterilità nei vaccini, sieri ed altri materiali per iniezioni ipodermiche. Arch. di Farmacologia sper., Vol. 5, fasc. 5—6—7. 1906.

Pergola, M., Azione dei batteri trattati con vari agenti battericidi, sul tellurito di potassio e sull'acqua ossigenata. Arch. p. le Scienze Med. Vol. 31, No. 5.

Derselbe, Sulla riduzione del tellurito di potassio per effetto dei batteri e dei tessuti animali con osservazioni di confronto sulla scomposizione del l'acqua ossigenata per opera degli stessi elementi. Riv. d'Ig. e San. Pubbl., Vol. 18. 1907.

Aus der Biol. Abt. des Georg Speyer-Hauses in Frankfurt a. M.
Direktor: Exz. Wirkl. Geheimer Rat Prof. Dr. Paul Ehrlich.

Über Neosalvarsan.

Von

Dr. med. **G. Castelli**, Assistent.

Versuche in vitro.

Seit länger als einem Jahre werden im Speyer-Haus Versuche angestellt, um den Grad der Giftigkeit und die Heilwirkung verschiedener Verbindungen von Salvarsan mit Hyraldit (= Formaldehydsulfoxylat, $CH_2(OH) \cdot OSONa$) festzustellen.

Nach Angabe von Exzellenz Ehrlich setzt man einer sauren Lösung von Dioxydiamidoarsenobenzol eine kleine Menge Hyraldit in wässeriger Lösung zu, erwärmt die Mischung leicht und erhält einen Niederschlag, welcher nach Zusatz einiger Tropfen Soda sich löst. Es gelingt auf diese Weise, eine nur leicht alkalische Salvarsanlösung zu erhalten. Jüngst ist es Ehrlich gelungen, eine Verbindung beider Präparate in Form eines gelblichen, im Wasser leicht löslichen Pulvers zu erhalten, welches aus zwei Teilen Salvarsan und einem Teil Hyraldit besteht. Die Lösung dieses Präparates — Neosalvarsan — in Wasser ist vollständig neutral.

Aus der reichen Literatur, die sich über das Dioxydiamidoarsenobenzol angesammelt hat, geht unzweifelhaft die spirillozide Wirksamkeit in vivo dieses Präparates hervor. Was das Wesen dieser spirilloziden Wirkung des Dioxydiamidoarsenobenzols betrifft, so sind die Ansichten darüber unter den Autoren geteilt:

So glaubt Ehrlich,[5] daß diese Wirkung auf der Avidität der Spirillen zu den Gruppierungen beruht, aus welchen dieses Präparat zusammengesetzt ist: nämlich der dreiwertige Arsenrest, die in der Parastellung befindliche Hydroxylgruppe und die Amidogruppe in Orthostellung.

Andere sprechen dem Salvarsan jede direkte Wirkung auf die Spirillen ab und meinen, daß das 606 nur dadurch wirkt, daß es die Schutzkräfte des Organismus erweckt. Diese Forscher stützen ihre Hypothese auf die schon seit den Untersuchungen Hatas[5] be-

kannte Tatsache, daß das Salvarsan sowohl als das Atoxyl keine parasitizide Wirkung in vitro ausübt.

Man weiß tatsächlich seit langem, daß das Atoxyl die experimentelle Trypanosomiasis und die Hühnerspirillosis verhütet und heilt, obwohl es außerhalb des Tierkörpers keine abtötende Wirkung hat.

Zwar haben Thomas u. Breinl 1904 (zit. v. Breinl u. Nierenstein,[3]) Jacoby u. Schütze,[9] Yakimoff,[38] Rothermundt u. Dale,[27] gefunden, daß das Atoxyl die Trypanosomen auch in vitro tötet. Uhlenhuth, Hübener u. Woithe,[36] beobachteten jedoch, daß die Trypanosomen in 8⁰/₀ Atoxyl-Lösung 7 Stunden lang lebend bleiben.

Nach Uhlenhuth u. Woithe[37] könnten Mückenlarven in konzentrierten gesättigten Lösungen von Arsanilat und Arsacetin nach 24—36 Stunden noch lebensfähig nachgewiesen werden. Diese Forscher schreiben die gegenteiligen Resultate von Jacoby und Schütze dem Vorhandensein von Spuren wirksamer Stoffe zu, welche möglicherweise dem verwendeten Atoxyl entweder von der Darstellung her oder infolge Dissoziation des Moleküls beigemischt waren. Auch nach Nierenstein[20] finden die Resultate von Thomas u. Breinl ihre Erklärung wohl nur darin, daß die früheren Atoxylpräparate freie Arsensäure enthielten.

Was die Wirkung des Atoxyls in vitro auf die Spirillen betrifft, so stimmen Uhlenhuth und Gross,[33] Levaditi und Mac Intosh,[14] Rothermundt und Dale[27] darin überein, daß dieses Medikament keine Wirkung ausübt.

Uhlenhuth, Hoffmann und Roscher haben bei Versuchen am Menschen und Affen, Levaditi und Yamanouchi[17] bei Kaninchen auch bei Treponema pallidum ein analoges Faktum beobachtet: das Atoxyl ist in vitro unwirksam; wenn es jedoch dem Organismus subkutan injiziert wird, so übt es eine unverkennbare Wirkung auf syphilitische Krankheitserscheinungen aus (Uhlenhuth) und verhütet und heilt die Keratitis syphilitica des Kaninchens, indem es eine extrazelluläre Zerstörung der Spirochaeta Schaudinn herbeiführt (Levaditi).

Nach Ehrlichs[4] Ansicht wirkt das Atoxyl im Tierkörper, weil es im Organismus reduziert wird und die Reduktionsprodukte mit dem dreiwertigen Arsenrest imstande sind, parasitotrope Eigenschaft auszuüben. Diese Theorie fand eine kräftige Stütze in den Untersuchungen von Friedberger.[6] Dieser Autor zeigte, daß er, wenn er das Atoxyl mittels Tyoglykolsäure reduzierte, ein Präparat er-

hielt, welches die Trypanosomen sowohl in vivo wie in vitro vernichtete.

Nierenstein[20] glaubt, daß die spezifische Wirkung des Atoxyls in corpore auf der Arsen- und auf der Amidogruppe beruht.

Moore, Nierenstein u. Todd[19] bezeichnet die NH_2-Gruppe als „trypanophobe-group".

Breinl u. Nierenstein[3] kommen zu dem Schluß, daß sich Atoxyl verbindet zum Teil durch die Amidogruppe mit den Serumproteiden: durch Oxydation wird aus diesem Atoxylserum Arsen in Freiheit gesetzt unter Verbrennung des aromatischen Kernes; zu gleicher Zeit wird durch einen Reduktionsprozeß das Atoxyl in arsenige Säure und Anilin gespalten. Das in Freiheit gesetzte Arsen in statu nascendi übt den zerstörenden Einfluß auf die Parasiten aus.

Levaditi[11, 12, 13] gibt zwar zu, daß die Wirkung des Atoxyls von einem Reduktionsprodukt abhängt, ist jedoch der Meinung, daß dieses Reduktionsprodukt sich mit den Eiweißsubstanzen einiger Organe des Tierkörpers vermischt und sich mittels dieses Eiweißkerns an die Parasiten heftet.

Yamanouchi[39, 40] ist der Ansicht, daß der in vivo wirkende Stoff nach der Injektion von Atoxyl im Blutkreislauf entsteht und sich dann mit den Trypanosomen verbindet; nach Terry[28, 29] wird das Atoxyl in eine trypanozide Substanz umgewandelt sowohl von der Leber als auch vom Blut. Er hat in vitro einen Unterschied zwischen dem transformierenden Agens in der Leber und dem aktiven Agens im Blut zeigen können.

Beck[2] stellt sich die Wirkung des Atoxyls im Körper so vor: Das Atoxyl ruft eine Vermehrung der Leukocytose und durch diese Leukocytose gleichzeitig eine Vermehrung der Tätigkeit der weißen Blutzellen hervor, wodurch eine Veränderung des Atoxyls in dem Sinne hervorgebracht wird, daß aus demselben eine trypanozide Substanz sich ausscheidet.

Peschić[22] hat kürzlich bei Hühnern gezeigt, daß die Gewöhnung der Tiere an Atoxyl durch oft wiederholte intramuskuläre und stomachale Einverleibung die spirillizide Wirkung des Mittels nicht beeinträchtigt, was für die Annahme der direkten Wirkung spricht.

Für alle diese Autoren wäre die Wirkung des Atoxyls oder seiner Reduktionsprodukte im Körper eine direkte Wirkung auf die Parasiten, dagegen wäre nach Uhlenhuth[34] die Wirkung des Atoxyls auf die Parasiten im Körper eine indirekte; er meint,

daß zwischen diesen und Atoxyl keine unmittelbaren Beziehungen bestehen, daß das Mittel die Zellen beeinflußt und diese dann durch Produktion gewisser Stoffe die Krankheitserreger angreifen.

Nach Agazzi[1] nimmt die Antikörperproduktion bei den mit Typhusbazillen vorbehandelten Kaninchen mittels Atoxyl-Injektion bedeutend zu.

Was nun die spirillizide Wirkung des Dioxydiamidoarsenobenzols betrifft, wurden die Untersuchungen Hatas über die Recurrensspirillen im Reagenzglas von Plaut,[23] Truffi und Sabbia[31] für die Spirochaeta pallida bestätigt. Auch diese Autoren beobachteten, daß das Salvarsan in vitro keine größere spirillizide Eigenschaft ausübt, als das in der Lösung enthaltene Alkali.

Bezüglich der Wirkung des 606 in vivo sprechen die Meinungen von Lesser[10] und Uhlenhuth[32] gegen die obige Ansicht Ehrlichs von einer direkten Beeinflussung der Spirillen durch Arsenobenzol. Lesser[10] neigt zu der Auffassung, daß 606 seine Wirkungen einer direkten Beeinflussung der Gewebe verdanke. Durch diese organotrope Eigenschaft werden die natürlichen Schutzstoffe des Körpers vermehrt.

Auch Uhlenhuth[32] hält eine direkt abtötende Wirkung oder direkt entwicklungshemmende Wirkung des Präparates für sehr wenig wahrscheinlich. Er ist der Ansicht, daß die Körperzellen parasitizide Stoffe produzieren.

Levaditi und Twort[15] machten die wertvolle Beobachtung, daß die Spirochaetae pallidae eines syphilitischen Schankers am Scrotum des Kaninchens schon elf Stunden nach Einspritzung von 606 ihre pathogene Wirkung verlieren, wenn schon es möglich ist, am Paraboloid gut bewegliche Spirillen noch 24 bis 48 Stunden nach der Injektion zu beobachten.

Friedberger und Masuda[7] beobachteten eine Steigerung der bakteriellen und normalen Antikörperproduktion nach Salvarsanbehandlung.

Nunmehr erhält man durch Verbindung mit Hyraldit in dem Neosalvarsan eine neutrale Arsenobenzollösung. Ich war daher der Ansicht, daß mittelst dieser neutralen Lösung es ermöglicht würde, etwas Licht in den Mechanismus der Wirkung des Präparates zu bringen.

Ich habe im Reagenzglas 1 ccm der Neosalvarsanlösung mit 1 ccm einer Suspension von Hühnerspirillen in Kochsalzlösung 0,85 % in Kontakt gebracht und in der ersten Versuchsreihe 0,3 ccm dieser Mischung Reisvögeln intramuskulär injiziert, und zwar

Tabelle I.

0,5 ccm einer 5%igen Lösung Hyraldit (in destill. Wasser) werden 10 ccm einer 10%igen Salvarsanlösung zugesetzt; mit wenigen Tropfen Soda löst man den durch mäßige Erwärmung erhaltenen Niederschlag; man verdünnt weiter mit Kochsalzlösung; mit je 1 ccm der Verdünnungen 1/1000, 1/2000, 1/4000 wird je 1 ccm einer Hühnerspirochätensuspension gemischt; nach 15 Minuten und nach 1 Stunde Kontakt infiziert man intramuskulär je einen Reisvogel durch je eine Einspritzung von 0,3 ccm jeder Mischung.

Endkonzentration der Mischungen	Spirillenbefund vor der Einspritzung nach $^1/_4$ Stunde Kontakt	Spirillen im Kreislauf der mit Gemisch infizierten Vögel (nach $^1/_4$ Stunde Kontakt)								Spirillenbefund vor der Einspritzung nach 1 Stunde Kontakt	Spirillen im Kreislauf der mit Gemisch infizierten Vögel (nach 1 Stunde Kontakt)							
		1.T.	2.T.	3. T.	4. T.	5. T.	6.T.	7.T.	8.T.		1.T.	2.T.	3.T.	4.T.	5.T.	6.T.	7.T.	8.T.
1/2000	einige Spirillen langsam beweglich	—	—	—	—	—	—	—	—	einige Spirillen langsam beweglich	—	—	—	—	—	—	—	—
1/4000	einige Spirillen gut beweglich	—	—	—	—	—	—	—	—	einige Spirillen gut beweglich	—	—	—	—	—	—	—	—
1/8000	gut beweglich	—	—	—	—	—	—	—	—	gut beweglich	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontr.: (mit Hyraldit allein) 1/2000	einige Spirillen langsam beweglich	—	++	+++	++++	++++	tot											

Minuten und eine Stunde nach dem Kontakt. Die im Dunkelfeld vor der Injektion untersuchten Spirillen zeigten sich ebenso beweglich wie die Kontrollspirillen, welche mit dem Hyraldit allein in Kontakt geblieben waren. Die mit dieser Mischung (Salvarsan + Spirillen) infizierten Vögel zeigten jedoch in den folgenden Tagen im Gegensatz zu der Kontrolle keine Parasiten im Blutkreislauf.

Ich habe absichtlich Reisvögel an Stelle von Hühnern gewählt, weil in den Hühnern möglicherweise das Auftreten einer leichten Infektion unbemerkt vorübergehen könnte, und weil ferner bei dem Huhn das Ausbleiben der Infektion den Gedanken einer stärkeren subsidiären Wirkung der Antikörper auf die Spirillen mit geringerer Virulenz aufkommen lassen könnte.

In den Tabellen bezeichne ich mit — das Fehlen von Spirillen bzw. Trypano-

somen; +, ++, +++ dagegen bedeutet das Quantum der im Blutkreislauf der Tiere vorhandenen Spirillen bzw. Trypanosomen.

Aus Tabelle I geht demnach hervor, daß die Spirillen, wenn sie eine Viertel- oder selbst eine Stunde in vitro mit Neosalvarsan in Kontakt bleiben, noch beweglich sind, daß aber trotzdem die Injektion dieser Mischung in Reisvögeln keine Infektion hervorruft.

Ein ebenso negatives Resultat erhielten Rothermundt und Dale[2] mit dem Atoxyl: Sie injizierten in das Peritoneum eines Huhns eine Mischung von Spirillen und Trypanosomen mit 1 ccm 10%igen Atoxyls und fanden in dem Exsudat gutbewegliche Spirillen 2—4 Stunden nach der Injektion; es fand jedoch keine Infektion statt.

Freilich finden in diesen Untersuchungen die negativen Resultate der Infektion ihre Erklärung, wenn man die Dosen des mit der Mischung injizierten Medikaments in Betracht zieht. Es ist nämlich die Heildosis des Salvarsans bei Hühnerspirillosis 0,0025 g pro Kilo Gewicht des Tieres. Mit dieser Dosis kann man die Vernichtung der Spirillen erzielen noch 48 Stunden nach der Infektion, wenn die Spirillen schon im Organismus verbreitet sind und im Blutkreislauf erscheinen. Sie entspricht 0,00005 g auf 20 g Gewicht (das mittlere Gewicht eines Reisvogels). Demnach würde die dem Reisvogel Nr. 1 injizierte Mischung 0,00014 g Salvarsan, d. h. das Dreifache der Heildosis enthalten; man kann es daher nicht von der Hand weisen, daß das Salvarsan, wenn es auch keine Wirkung auf die Spirillen schon in vitro ausgeübt hat, erst in dem Körper seine spirillizide Wirkung geltend macht. Die dem Reisvogel Nr. 2 injizierte Mischung enthält 0,00007 g Salvarsan, die dem Reisvogel Nr. 3 injizierte Mischung 0,000035 g. Auch in diesem letzteren Falle haben wir das Ausbleiben der Infektion beobachtet, obwohl die injizierte Dosis Salvarsan kleiner als die Heildosis war. Man darf jedoch nicht außer acht lassen, daß in diesem Falle (infektiöses Agens mit dem Medikament gemischt) die Heildosis viel kleiner als die von Hata festgesetzte sein darf, so daß auch die dem Reisvogel Nr. 3 injizierte Salvarsandosis für genügend angesehen werden kann, um das Ausbleiben der Infektion zu erklären. In dem Fall von Rothermundt und Dale betrug das mit der Mischung injizierte Atoxyl 0,1 g, während die Heildosis des Atoxyls, falls die Injektion des Medikaments intramuskulär 48 Stunden nach der Infektion stattgefunden hat, 0,03 g pro Kilo nach Hata[5] und 0,02 g pro Kilo nach Rothermundt und Dale[26]

beträgt. Daher spricht auch in diesem Falle das Ausbleiben der Infektion beim Huhn nicht für eine Wirkung des Medikaments auf die Spirillen in vitro, sondern sie ist sehr wohl durch die Menge des dem Tiere injizierten Medikaments erklärlich.

Seit langem hatten Uhlenhuth, Groß und Bickel[33] beobachtet, daß Hühner intramuskulär injiziert durch je 2 ccm einer seit 1, 3, 6 Tagen hergestellten Mischung von spirochätenhaltigem Blut und 1%iger Atoxyllösung zu gleichen Teilen ebenso schnell erkrankten wie die Kontrolle.

Auch Levaditi und Mac Intosh[14] haben seit 1907 beobachtet, daß, wenn man 50 Tropfen Atoxyl (2%) mit 10 Tropfen spirillenreichen Blutes vermischt und nach einem Kontakt von 2 Stunden Reisvögeln die durch Zentrifugierung getrennten Parasiten injiziert, die Tiere infiziert werden wie die Kontrolle: und daraus schlossen sie, daß das Atoxyl nicht in den Spirillen fixiert wird.

Aus diesen Erwägungen heraus habe ich eine weitere Reihe von Untersuchungen unternommen.

Da ich bemerkt habe, daß auch die Hühner- und die Recurrensspirillen, analog den Trypanosomen nach den Beobachtungen von Terry[29] und Schern,[28] sich lebhafter in vitro bewegen, wenn man dem Kochsalz, in welchem sie aufgeschwemmt sind, eine kleine Menge Serum zusetzt, habe ich bei den folgenden Versuchen als Vehikel eine Lösung von Hühnerserum bzw. Pferdeserum von $^1/_{10}$ verwendet.

Schern[28] schreibt dem Serum eine lebensverlängernde Wirkung auf Trypanosomen zu: das ist in Spirillen, mindestens für eine kleine Menge Serum, nicht der Fall; die Parasiten bewegen sich lebhafter in dem Kochsalz mit Serumzusatz als in Kochsalz allein, sterben aber gleichzeitig.

Nachdem ich eine Suspension von Hühnerspirillen in Kontakt mit der neutralen Salvarsanlösung gebracht hatte, habe ich die Mischung schnell abzentrifugiert, das Sediment in einer großen Menge einer Verdünnung von Hühnerserum in physiologischer Lösung abgespült, von neuem zentrifugiert, das Sediment mittels Hühnerserums $^1/_{10}$ auf 0.5 ccm gebracht und davon 0,3 ccm intramuskulär in die Reisvögel injiziert.

Ich berichte in der Tabelle II über die Resultate dieser Untersuchungen:

Tabelle II.

Lösung des Salvarsans mit Hyraldit und Soda wie in Tabelle I; 1 ccm der Verdünnungen 1/500, 1/1000, 1/2000 wird mit 1 ccm einer in Hühnerserum 1/10 Spirillenaufschwemmung 15 Minuten in Kontakt gelassen und geschüttelt. Nach rascher Zentrifugierung wird der Bodensatz mit Hühnerserum 1/10 gewaschen und wieder abzentrifugiert; bis auf 1 ccm mit Hühnerserum 1/10 verdünnt; davon 0,3 ccm intramuskulär in Reisvögel gespritzt.

Endkonzentration der Mischungen	Spirillenbefund vor der Einspritzung	Spirillen im Kreislauf der mit 0,3 ccm des zentrifugierten, gewaschenen Bodensatzes infizierten Vögel Tag nach der Infektion:							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.—15.	
1/1000	gut beweglich	—	—	—	—	—	—	—	—
1/2000	" "	—	—	—	—	—	-	—	—
1/4000	" "	—	—	—	—	—	—	—	—

Dieser Versuch wurde sehr oft wiederholt mit stets gleichem Erfolg. In Tabelle III berichte ich über die Versuche, die mit einer Neosalvarsanlösung gemacht worden sind. Das Hühnerserum, das ich als Vehikel für die Suspension der Hühnerspirillen benutzte, wurde auf 37° gehalten, und auch die Mischung von Spirillen und Neosalvarsan wurde während des Kontakts auf 37° gelassen.

Tabelle III.

0,1 g Neosalvarsan wird in Kochsalz gelöst; 1 ccm der Verdünnungen 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/3000 wird mit einem gleichen Teile einer in Hühnerserum $^1/_{10}$ hergestellten Hühnerspirillenaufschwemmung 15 Minuten lang in Kontakt gelassen, im Wasserbad 37°; nach rascher Zentrifugierung wird der Bodensatz mit Hühnerserum $^1/_{10}$ bei 37° gewaschen und wieder abzentrifugiert; bis auf 1 ccm mit Hühnerserum $^1/_{10}$ bei 37° verdünnt: davon werden 0,2 ccm je einem Vogel intramuskulär eingespritzt.

Endkonzentration der Mischung	Spirillenbefund vor der Einspritzung	Spirillen im Kreislauf der mit 0,2 ccm des gewaschenen Bodensatzes infizierten Vögel Tag nach der Infektion:							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.—15.	
1/1000	sehr gut beweglich	—	—	—	—	—	—	—	—
1/2000	" " "	—	—	—	—	—	—	—	—
1/2000	" " "	—	—	—	—	—	—	—	—
1/4000	" " "	—	--	—	—	—	—	—	—
1/6000	" " "	—	—	—	—	—	—	—	—
1/6000	" " "	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrolle (ohne Neosalvarsan)	" " "	—	+	+++	+++	+++	tot		

Aus den Tabellen II und III geht hervor, daß die Hühnerspirillen nicht getötet werden, wenn man sie mit dem Neosalvarsan in Verbindung bringt. Sie verlieren jedoch die Fähigkeit, eine Infektion hervorzurufen, wenn sie einem normalen Organismus injiziert werden.

In einer anderen Reihe von Untersuchungen habe ich die Mäuse intraperitoneal mit 0,2 ccm einer Suspension von zentrifugierten und gewaschenen Recurrensspirillen infiziert, nachdem ich letztere eine Viertelstunde lang in Berührung mit verschiedenen Neosalvarsanlösungen gelassen hatte. Als Vehikel für die Recurrensspirillen brauchte ich Pferdeserum mit Kochsalz verdünnt; während des Kontakts wurden die Röhrchen im Wasserbad auf 37° gehalten.

Tabelle IV.

1 ccm einer Recurrensspirillenaufschwemmung (5 Tropfen reichspirillenhaltiges Mäuseblut in 15 ccm Pferdeserum $^1/_{10}$ zu 37°) wird 15 Minuten in Kontakt gelassen mit 1 ccm des in Kochsalz gelösten Neosalvarsans im Wasserbad 37°: Zentrifugierung, Waschung, Zentrifugierung: auf den Bodensatz nimmt man Pferdeserum $^1/_{10}$ bis auf 0,5 ccm; davon werden 0,2 ccm in Maus eingespritzt.

Endkonzentration der Mischung	Spirillenbefund vor der Einspritzung	Spirillenbefund im Kreislauf der mit 0,2 ccm des abzentrifugierten, gewaschenen Bodensatzes eingespritzten Mäuse — Tag nach der Infektion: 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.—15.
1/200	gut beweglich	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— —
1/200	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— —
1/500	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— —
1/500	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— —
1/1000	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— —
1/1000	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— —
1/1000	„ „	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	+ —
1/2000	„ „	—	—	—	—	—	—	tot				
1/4000	„ „	—	—	—	—	—	—	+	++	+	+	+ —
Kontrolle	„ „	—	+	++	+	+	—	—				
	„ „	—	+	++	+	+	—	—				
	„ „	+	+++	+++	tot							
	„ „	+	+++	tot								

Die Tabelle IV zeigt, daß auch die Recurrensspirillen, wenn man sie mit einer Neosalvarsanlösung, bis auf 1/1000 verdünnt, in Berührung läßt, nicht absterben, wohl aber die Fähigkeit verlieren, eine Infektion hervorzurufen, sobald sie darauf in normale Mäuse injiziert werden.

Entsprechende Versuche wurden mit Trypanosomen (Nagana) ausgeführt.

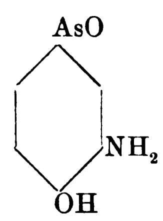
Tabelle V.

Technik wie in den Versuchen der Tabelle IV; statt Spirillen wird trypanosomenhaltiges Mäuseblut verwendet.

Endkonzentration der Mischung	Trypanosomen vor der Einspritzung	Trypanosomenbefund im Kreislauf der mit 0,2 ccm des nach dem Kontakt gewaschenen Bodensatzes eingespritzten Mäuse Tag nach der Infektion:							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7. bis 18.	
1/2000	gut beweglich	—	—	—	—	—	—	—	—
1/2000	„	—	—	—	—	—	—	—	—
1/4000	„	—	—	—	—	—	—	—	—
1/4000	„	—	—	—	—	—	—	—	—
1/8000	„	—	—	—	—	—	—	—	—
1/8000	„	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrolle	„	+	++	tot					
		+	+++	tot					

Aus der Tabelle V geht hervor, daß die Trypanosomen wie die Spirillen nach dem Kontakt mit Salvarsan noch gut beweglich sind, aber nicht mehr infektionsfähig.

Entsprechende Resultate habe ich mit dem Paraoxy-meta-amidophenol-arsenoxyd von der Formel:



erzielt; dieses Mittel, in Form eines weißen Pulvers, ist in warmem Wasser leicht löslich; die Dosis tolerata ist für die Maus nach Hatas Angabe ein ccm einer Verdünnung 1:3000 pro 20 g Gewicht des Tieres; die Dosis curativa bei Recurrens ist 1 ccm einer Verdünnung 1:4000.

Hühner- und Recurrensspirillen bleiben nach dem Kontakt mit diesem Präparat gut beweglich, sind aber nicht mehr infektiös; und zwar sind die Recurrensspirillen nach einer Viertelstunde und selbst nach einer Stunde Kontakt in vitro mit einer Verdünnung von 1/3000 dieses Präparates noch sehr gut beweglich; aber die intra-

peritoneale Injektion in eine Maus von 0,2 ccm der abzentrifugierten gewaschenen Spirillen oder der Mischung (Spirillen plus Mittel), nachdem die Spirillen mit einer Verdünnung bis 1/50000 dieses Mittels zu gleichen Teilen eine Viertelstunde in vitro zu 37° in kontakt geblieben sind, ruft keine Infektion hervor; und die intraperitoneale Injektion der Spirillen nach einer Viertelstunde Kontakt zu 37° mit einer Verdünnung von 1/100000 bewirkt eine sehr leichte Infektion und nur nach einer langen Inkubationsperiode, von 4 bis 7 Tagen, während bei den Kontrollen die Infektion schon am ersten Tag zum Vorschein kommt.

Weiterhin habe ich untersucht, ob das Atoxyl dieselben Eigenschaften wie das Salvarsan besitzt. Die Resultate stimmen mit den oben erwähnten Befunden von Levaditi und Mac Intosh (19) völlig überein. Die Hühnerspirillen behalten, wenn man sie in Berührung mit einer Atoxyl-Lösung läßt, welche 10 mal konzentrierter ist als die entsprechende Salvarsanlösung, und dann dem Huhn injiziert, die Fähigkeit, eine Infektion zuwege zu bringen, die ganz analog den schweren Infektionen der Kontrolltiere verläuft.

Tabelle VI.

Technik wie in Tabelle II; statt Salvarsan wird Atoxyl in physiologischem Kochsalz gelöst.

Endkonzentration der Mischung:	Spirillenbefund vor der Einspritzung:	Spirillenzahl im Kreislauf der mit ccm 0,2 der nach dem Kontakt gewaschenen Spirillen infizierten Vögel							
		Tag nach der Infektion:							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1/400	meistens gut beweglich	—	+	++	+++	+++	+++	tot	
1/400	„	—	++	+++	+++	+++	tot		
1/800	„	—	—	++	++	+++	+++	tot	
1/800	„	—	—	+	+++	+++	+++	+++	tot
1/800	„	—	++	++	+++	+++	tot		
1/800	„	—	—	++	+++	+++	+++	tot	
1/1600	„	—	++	+++	+++	+++	+++	tot	
1/1600	„	—	++	+	++	+++	+++	tot	
Kontrolle		—	++	++	+++	+++	+++	tot	

In Tabelle VII werden die Versuche mit Neosalvarsan und mit Atoxyl bei Hühnerspirillosis nochmals gleichzeitig angestellt.

Tabelle VII.

Konzentration der Mischung	Spirillenbefund	Spirillenzahl im Kreislauf der mit 0,2 ccm der nach dem Kontakt gewaschenen Spirillen infizierten Vögeln Tag nach der Infektion:							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	
Atoxyl 1/400	gut beweglich	—	+	++	+++	+++	+++	tot	
Atoxyl 1/800	„	—	+	++	+++	+++	tot	—	
Neosalv. 1/1000	„	—	—	—	—	—	—	—	während 1 Mon. frei von Spirillen
Neosalv. 1/2000	„	—	—	—	—	—	—		„ „
Kontrolle		—	+	+++	+++	+++	tot		

Die oben mitgeteilten Versuche sind meiner Ansicht nach geeignet, klärend zu wirken auf das gesamte besprochene Problem der Aktionsweise dieser Arsenpräparate bei den Spirillen- und Trypanosomenerkrankungen.

Sie dienen zum Beweise, daß die unerläßliche Vorbedingung der parasitiziden Wirkung des Salvarsans nicht in der Einwirkung des Präparates auf die Schutzkräfte des Organismus zu suchen ist, sondern in einer wirklichen und eigentümlichen Avidität des Parasitenkörpers zu diesem Medikament. Es erweckt den Anschein, als ob Spirillen und Trypanosomen mittels chemischer Zeptoren sich an diesen Körper festklammern und ihn während der Injektion in dem tierischen Organismus mit sich fortreißen.

Interessant ist im Vergleich hierzu das positive Resultat der Infektion, wie es mittels Injektion von Spirillen erzielt wird, nachdem sie in Kontakt mit Atoxyl in vitro gewesen waren. Denn es beweist uns als Stütze der Theorie von Ehrlich, daß die in Rede stehenden Arsenpräparate nur dann ihre Wirkungen auf die Parasiten ausüben können, wenn die Arsengruppe trivalent ist, nicht aber, wenn dieselbe alle ihre Werte gesättigt hat, wie das beim Atoxyl der Fall ist.

Daß das Spirillenprotoplasma eine spezifische Avidität zum Salvarsan hat, wird auch durch die Möglichkeit, gegen Salvarsan feste Spirillenstämme zu züchten, bewiesen.

Es ist im Speyer-Haus in der Tat gelungen, durch Fortsetzung der Versuche von Margulies[18] einen Stamm von Recurrensspiro-

chäten und einen von Hühnerspirillose zu erhalten, welche gegen Salvarsan fest waren. Gonder[11] hat die Protokolle dieser Versuche im Ztbl. für Bakteriologie ausführlich veröffentlicht. Der Stamm der Recurrensspirochäten wurde durch 100 Passagen resistent gegen eine Salvarsandosis von 1:250 (1 ccm je 20 g Gewicht der Maus), der Stamm der Hühnerspirillose wurde mittels 190 Passagen resistent gegen Salvarsan in der Dosis von 0,02 g pro Kilo. Anderseits gelang es Rothermundt und Dale[31] nicht, eine Stammfestigkeit der Hühnerspirochäten gegen Atoxyl zu erreichen.

Aus meinen Versuchen muß ich folgende Hauptschlüsse ziehen, die für die chemotherapeutische Beeinflussung pathogener Mikroorganismen in Betracht kommen:

In erster Linie scheint mir der wichtigste Faktor die **Verankerung** der Arzneimittel durch die Chemozeptoren zu sein, die an und für sich wohl schon eine entwicklungshemmende Wirkung auf die Parasiten ausüben kann; zweitens ist es auch möglich, daß das angewandte Arzneimittel im Tierkörper chemische Umwandlungen erfährt, die zu Verbindungen mit anderen Gruppierungen führen, welche direkt abtötend auf die Parasiten wirken; und drittens ist es auch nicht ausgeschlossen, daß die parasitizide Wirkung des verankerten Arzneimittels noch ergänzt wird durch eine Beeinflussung der Körperzellen.

Aus den oben erwähnten Versuchen geht hervor, daß die spirillizide und trypanozide Wirkung der in Frage kommenden arsenischen Präparate auf einer **direkten Verankerung des Medikamentes mittels Chemozeptoren des Parasiten** begründet ist. Diese Verankerung findet nur statt bei den Präparaten, bei welchen die Gruppe As trivalent ist, nicht dagegen bei solchen, deren Gruppe „As" vollwertig gesättigt ist.

Literatur.

1. Agazzi, Zeitschrift f. Immunitätsf. Orig. Bd. I, 1909.
2. Beck, Zeitschrift f. Immunitätsf. Orig. Bd. VIII, 1910.
3. Breinl u. Nierenstein, Zeitschrift f. Immunitätsf. Orig. Bd. I, 1909.
4. Ehrlich, Berl. klin. Wochenschr. Nr. 11, 1909.
5. Ehrlich u. Hata, Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen. Berlin, Springer, 1910.

6. **Friedberger**, Berl. klin. Wochenschr. Nr. 38, 1908.
7. **Friedberger u. Masuda**, Therap. Monatshefte, 1911.
8. **Gonder**, Zentralbl. f. Bakter. I. Abt. Orig. Bd. 62, 1912.
9. **Jacoby u. Schütze**, Bioch. Zeitschr. Bd. XII, 1911.
10. **Lesser**, Berl. klin. Wochenschr. Nr. 43, 1910.
11. **Levaditi**, C. R. Soc. de Biol. Séance du 9 Janvier 1909.
12. **Derselbe**, C. R. Soc. de Biol. Séance du 27 Mars 1909.
13. **Derselbe**, Ann. de l'Inst. Pasteur 1909. t. 23.
14. **Levaditi u. Mc Intosh**, C. R. Soc. de Biol. 1907.
15. **Levaditi u. Twort**, C. R. Soc. de Biol. Séance du 24 XII. 1910.
16. **Levaditi u. Yamanouchi**, C. R. Soc. de Biol. Séance du 23 Mai 1908.
17. **Dieselben** C. R. Soc. de Biol. Séance du 24 Juillet 1908.
18. **Margulies**, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 41, 1910.
19. **Moore, Nierenstein u. Todd**, Annals of Trop. med. and Parasitology Vol. II. No 4, 1909.
20. **Nierenstein**, Annals of Trop. med. and Parasitology Vol. II. No. 3. 1908.
21. **Derselbe**, Annals of Trop. med. and Parasitology Vol. II. No. 4. 1909.
22. **Peschić**, Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. XIII, 1912.
23. **Plaut**, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 48, 1910.
24. **Röhl**, Berl. klin. Wochenschr. Nr. 11, 1909.
25. **Derselbe**, Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. II, 1909.
26. **Rothermundt u. Dale**, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 39, 1911.
27. **Dieselben** Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. XII, 1912.
28. **Schern**, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 38, S. 338.
29. **Terry**, B. T. Proc. of the Soc. f. Exper. Biology and Medicine IX. pp. 41—42, 1912.
30. **Derselbe**, B. T. Ibidem IX. pp. 40—41, 1912.
31. **Truffi u. Sabbia**, Pathologica. Vol. III, 1911.
32. **Uhlenhuth**, Medizinische Klinik, Nr. 5, 1911.
33. **Uhlenhuth u. Groß**, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 27, 1907.
34. **Uhlenhuth, Groß u. Bickel**, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 4, 1907.
35. **Uhlenhuth, Hoffmann u. Roscher**, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 22, 1907.
36. **Uhlenhuth, Hübener u. Woithe**, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 27, 1907.
37. **Uhlenhuth u. Woithe**, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 29, 1908.
38. **Yakimoff**, Zeitschr. f. Infektionskr. Bd. IX. 1911.
39. **Yamanouchi**, C. R. Soc. de Biol. Séance du 22 Janvier 1910.
40. **Derselbe**, Über die Wirkung des Atoxyls auf Trypanosomen im Organismus. Deutsche Buchdruckerei A. Reiff-Heymann, Paris, 1910.

Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie, Frankfurt a. M.
Direktor: Wirkl. Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich.

Die Beeinflussung der Intensität der Immunkörperbildung durch das Salvarsan.

Von

Stabsarzt Dr. **K. E. Boehncke**, Mitglied des Instituts.

Durch die Untersuchungen von Friedberger und Masuda [1]) ist bekannt, daß beim vaccinierten Kaninchen (Vibrio Metschnikoff und Bacillus ty. abdom.) unter dem Einfluß des Salvarsans die Intensität der gebildeten agglutinierenden Antikörper eine beträchtliche Steigerung, um das 15—32fache gegenüber der entsprechenden Kontrolle erfährt. Auch für die Normalhämolysine des Blutes konnte von den genannten Autoren bei Salvarsanbehandlung des Kaninchens eine regelmäßige, nicht unbeträchtliche Steigerung nachgewiesen werden. Ganz neuerdings berichtet Strubell [2]), daß er bei seinen Studien über die pharmakologische Beeinflussung des opsonischen Index eine deutliche Tendenz des Salvarsans feststellen konnte, den opsonischen Index zu steigern, was sich im Tierversuch bereits 2—8 Stunden nach intramuskulärer Einverleibung des Mittels nachweisen ließ. Da nun das Verhalten der Agglutinine nicht ohne weiteres als allgemein gültiger Maßstab für die anderen Antikörper gelten konnte, so erschien es interessant, weitere Untersuchungen darüber anzustellen, ob sämtliche bei der Infektion bezw. Vaccination entstehenden Antikörper eine gleichsinnige Steigerungsfähigkeit zeigen. Außer dem theoretischen Interesse, das eine solche Feststellung hatte, erschien sie überdies in praktischer Hinsicht von besonderem Wert, da ja die Agglutinine nach dem übereinstimmenden Urteil der Autoren als eigentliche Schutzkörper nicht in Betracht kommen, während die Möglichkeit einer Steigerung der Produktion der Immunkörper im engeren Sinne, also der Antitoxine, Bakteriolysine (Bakterizidine), Bakteriotropine und komplementbindenden Antistoffe durch Salvarsan

---

[1]) Therapeut. Monatshefte 1911, Nr. 5.

[2]) Berliner klin. Wochenschr. 1912, Nr. 22.

bedeutungsvoll sein konnte, einmal hinsichtlich einer gewissen unterstützenden Heilwirkung des. Mittels bei bakteriellen Infektionen, ganz besonders aber für die Steigerung des spezifischen Wertgehalts der Immunsera. Aus praktischen Gründen erschien es angezeigt, auch das Verhalten der Präzipitine wegen ihrer Bedeutung für diagnostische Zwecke in den Kreis dieser Untersuchungen miteinzubeziehen.

Als Versuchstiere zur Erzeugung der einzelnen Immunsera dienten in der Hauptsache Kaninchen, daneben Meerschweinchen und Ziegen. Die Frage einer etwaigen, den Heilungsprozeß unterstützenden Wirkung des Salvarsans bei der Infektion bezw. Intoxikation durch Steigerung der Immunkörperbildung wurde an Meerschweinchen und Kaninchen geprüft.

Die Lösung des Salvarsans wurde folgendermaßen vorgenommen: 0,1 g Substanz wurde mit ca. 2—3 ccm physiologischer Kochsalzlösung angerührt und restlos in Lösung gebracht, Reaktion sauer. Dazu auf einmal abgemessene Menge von 3,2 ccm $N/_5$ NaOH und je nach Beschaffenheit der Lösung noch tropfenweise $N/_5$ NaOH bis zu völliger Klarheit. Auffüllung auf beliebige Konzentration. Reaktion je nach der Konzentration alkalisch bis schwach alkalisch.

Für die Bereitung der zahlreichen Einzellösungen bin ich Fräulein Leupold, Assistentin am Georg-Speyer-Haus, zu lebhaftem Dank verpflichtet. Als Substrat zur subkutanen Injektion wurde steriles destilliertes Wasser, zur intravenösen Injektion sterile, aus jedesmal frisch destilliertem Wasser bereitete physiologische Kochsalzlösung benutzt, um Schädigungen der Versuchstiere, wie sie bei Gebrauch von älterem destilliertem Wasser infolge größeren Pilzreichtums[1]) entstehen können, zu vermeiden.

Der Gang der Untersuchungen gestaltete sich im einzelnen folgendermaßen:

I. Das Verhalten der Antitoxine.

Meerschweinchen und Kaninchen wurden subkutan absolut tödliche bezw. mehrfach tödliche Dosen eines hochwirksamen Diphtherietoxins (benutzt wurde unser Prüfungs-Testgift vom März 1908) injiziert. Daneben wurden — meist gleichzeitig, aber getrennt — pro Kilogramm des Körpergewichts der Versuchstiere berechnete Mengen von Salvarsan subkutan bezw. intravenös injiziert. Es

[1]) Wechselmann, Münch. med. Wochenschr. 1911.
Yakimoff und Kohl-Yakimoff, ebenda 1911 und 1912.

sollten damit keineswegs Heilversuche der Diphtherieintoxikationen durch Salvarsan gemacht, vielmehr nur geprüft werden, ob bezw. inwieweit die Salvarsanzufuhr eine erhöhte Bildung der Antitoxine zur Folge hatte und damit den natürlichen Reaktionsprozeß des Tierkörpers zu unterstützen vermochte.

Tabelle 1.

Meerschweinchen	Gewicht	Dosis des Diphtherietoxins.	Art der Injektion	Salv.-Dos. pro 1 kg Körpergewicht	Art der Injekt.	Ausgang.
1.	270	0,007	subkutan	0,06	subkutan	Infiltrat, Nekrose; lebt nach 20 Tagen.
2.	270	0,007	„	0,05	„	„
3.	250	0,007	„	0,02	„	Breites Infiltrat Tod 7.
I. Kontrolle	250	0,007	„	—	—	Alsbald breites Infiltrat. + 3½.
4.	260	0,01	„	0,05	i. v.	Alsbald breites Infiltrat. + 2½.
5.	260	0,01	„	0,05[1]	„	Starkes Infiltrat. + 4.
II. Kontrolle	250	0,01	„	—	—	Alsbald breites Infiltrat. + 2.

Bei Injektion einer absolut tödlichen Dosis von Diphtherietoxin erscheint der Intoxikationsverlauf durch gleichzeitige Salvarsangaben (s. Tabelle 1) wesentlich, und zwar parallel mit der Höhe der Salvarsandosis gegenüber den Erscheinungen beim Kontrolltier gemildert, offensichtlich durch eine erhöhte Antikörperproduktion.

Bei der Wahl einer sehr massiven Toxindosis verwischt sich, wie dies Versuchstier 4 und 5 und die dazu gehörige Kontrolle (II) zeigt, der Unterschied naturgemäß, da die Bindung der großen Toxinmenge an die Körperzelle zu schnell und fest erfolgt, um noch nennenswerte Antitoxinbildung im Gefolge zu haben. Bei vorheriger Einverleibung des Salvarsans ist aber eine Verzögerung des Endes (Versuchstier 5) gegenüber der Kontrolle (II) ganz unverkennbar.

---

[1]) Hier erfolgte die Salvarsaninjektion 3 Stunden vor der Toxineinspritzung.

Auch bei kleineren Toxindosen ist derselbe Effekt des Salvarsans deutlich (s. Tabelle 2); jedoch ist der Unterschied hier nicht so ausgeprägt, wohl infolge der intravenösen bezw. intrakardialen Injektion des Salvarsans, bei der das Mittel den Körper weit schneller verläßt, als bei der in der 1. Versuchsreihe angewendeten subkutanen Einverleibung, wo es eine gewisse Depotwirkung entfalten konnte.

Tabelle 2. Meerschweinchen von 250—270 g.

Dosis des Di.-Toxins	Art der Injektion	Salv.-Dosis pro 1 kg Körpergew.	Art der Injektion	Ausgang.
0,0065	subkutan	0,05	i. v.	Infiltrat. Nekrose, + 18.
„	„	—	—	Breites Infiltrat, + 4.
0,005	„	0,05	i. k.	Infiltrat, Nekrose, + 18.
„	„	—	—	Breites Infiltrat, + 5.
0,004	„	0,05	i. k.	Infiltrat, Nekrose, Tier nach 22 Tagen munter, + 31.
„	„	—	—	Breites Infiltrat, Nekrose, + 10.
0,003	„	0,05	i. k.	Mäßiges Infiltrat, geringe Nekrose, nach 22 Tagen munter, + 32.
„	„	—	—	Infiltrat, Nekrose, am 17. Tage Lähmung der hinteren Extremitäten, + 21.

Die Steigerung der Antitoxinproduktion bei Meerschweinchen bei kombinierter Salvarsan- und Diphtherietoxineinverleibung wird meßbar bei Verwendung untertödlicher Toxindosen. Zu dem Zweck erhielten Meerschweinchen von 250 g sukutan:

A. 0,06 Salvarsan pro kg + 0,002 Di.-Toxin.
C. 0,06 „ „ + 0,003 „

zur Kontrolle

B. — — 0,002 „
D. — — 0,003 „

12 Tage nach der Injektion wurden die Tiere entblutet und das Serum nach der Ehrlich-Marxschen[1]) Methode ausgewertet.

[1]) Zentralbl. f. Bakteriologie. Orig.-Bd. 36. 1904.

Es fand sich in 1 ccm des Serums von

A. zwischen 1/350 bis 1/300 I. E.
C. „ 1/350 „ 1/300 „
B. weniger als 1/350 I. E.
D. „ „ 1/350 „

Notwendig erscheint die Einverleibung einer genügend großen Dosis des Chemikale, da bei sehr kleiner Salvarsandosis der Reiz zu einer Steigerung der Antikörperproduktion anscheinend nicht mehr groß genug ist, um meßbare Unterschiede gegen die Kontrolle zu liefern:

Meerschweinchen von 250 g erhalten subkutan

A. 0,01 Salvarsan pro 1 kg + 0,001 Di.-Toxin.
B. — — — 0,001 „
C. 0,01 Salvarsan pro 1 kg + 0,0005 „
D. — — — 0,0005 „

Bei der Auswertung zeigt sich hier kein Unterschied im Wertgehalt des Serums der mit Salvarsan injizierten Tiere gegenüber den Kontrollen.

Dieselbe Resistenzerhöhung wie beim Meerschweinchen konnte in weiteren Versuchen an den gegen Diphtheriegift sehr empfindlichen Kaninchen beobachtet werden. Die Versuchstiere hatten ein Gewicht von 1300—1500 g. Die Salvarsaninjektion erfolgte intravenös, das Toxin wurde unmittelbar danach subkutan eingespritzt (s. Tabelle 3).

Tabelle 3.

Salvarsan i. v. pro kg Körpergewicht	Di.-Tox. subkutan	Ausgang	Überlebt die Kontrolle.
—	0,004	+ 5	—
0,04	0,004	10	um 5 Tage
—	0,005	+ 4	—
0,05	0,005	+ 10	um 6 Tage
0,06	0,005	+ 12	um 8 Tage
0,07	0,005	+ 13	um 9 Tage
0,08	0,005	+ 37	um 33 Tage
0,09	0,005	+ 12	um 8 Tage
0,01	0,005	+ 18	um 14 Tage

Überall muß, wie aus dem Unterschied im Ausgang gegenüber der Kontrolle hervorgeht, unter dem Einfluß des Salvarsans die

Intensität der Antitoxinbildung eine, zum Teil ziemlich erhebliche Steigerung erfahren haben. Auch hier zeigen sich die größeren Ausschläge bei Verwendung höherer Dosen des Mittels. (Bei dem Kaninchen, das 0,08 g Salvarsan pro 1 kg Körpergewicht erhielt, handelt es sich wohl um eine zufällige natürliche Resistenz.)

Ferner wurden zur Erzeugung eines antitoxischen Serums Kaninchen mit allmählich steigenden Dosen eines hochwirksamen Diphtherietoxins, teils aktiv, teils aktiv und passiv, immunisiert und der Antitoxingehalt des Serums nach der Methode von Ehrlich und Marx[1]) ausgewertet. Bei der bekannten Schwierigkeit der Diphtherieimmunisierung von Kaninchen mußte man sich naturgemäß mit bescheidenen antitoxischen Werten begnügen, jedoch war trotzdem die Wertdifferenz der von Salvarsantieren stammenden Sera, gegenüber den entsprechenden Kontrollseris von Kaninchen, die kein Salvarsan erhielten, deutlich.

Antitoxin I.

Kaninchen Nr. V. Gew. 1800 g.	Kaninchen Nr. VI. Gew. 1650 g.

Aktive Immunisierung: Beginn 3. 3. 1912.

28. 3. 1912: Probeblutung.

In 1 ccm Serum 1/100 I. E.	In 1 ccm Serum 1/75 I. E.
29. 3. 1912: intravenöse Injektion von 0,06 Salvarsan pro kg + 8 ccm 1/500 Di.-Toxin (Märzgift 1908).	29. 3. 1912: intravenöse Injektion von 8 ccm 1/500 Di.-Toxin (Märzgift 1908).

6. 4. 1912: Blutentnahme.

In 1 ccm Serum $^1/_2$ I. E.	In 1 ccm Serum 1/60 I. E.

Antitoxin II.

Kaninchen Nr. I. Gew. 1320 g.	Kaninchen Nr. II. Gew. 1630 g.

8. 3. 1912: Beginn der aktiv-passiven Immunisierung.

19. 3. 1912: Probeblutentnahme.

In 1 ccm Serum 1/80 I. E.	In 1 ccm Serum 1/60 I. E. (knapp).
19. 3. 1912 intravenöse Injektion von 0,05 Salvarsan pro 1 kg + subkutan 5 ccm 1/500 Toxin.	19. 3. 1912 subkutane Injektion von 5 ccm 1/500 Toxin.

27. 3. 1912: Blutentnahme.

In 1 ccm Serum 1/50 I. E.	In 1 ccm Serum 1/60 I. E.

[1]) a. a. O.

In beiden Fällen hatten anscheinend die Kontrollen (Kaninchen VI u. II) ein besser antikörperbildendes Vermögen, als die Versuchstiere (V u. I). Nach der Salvarsaninjektion änderte sich das Verhältnis, bei Versuchstier V sogar in sehr erheblichem Maße, zugunsten der mit Salvarsan und Toxin behandelten Tiere.

Auch im längeren Verlauf einer Immunisierung konnte, wie die unten folgenden Protokolle von Kaninchen 4 und 6 zeigen, bei den einzelnen Auswertungen eine erheblichere Zunahme des Antitoxingehalts des Serums gerade unter dem Einfluß einer Salvarsaninjektion festgestellt werden.

Kaninchen: Kontrollnummer 4, Gew. 1920 g.

8. 3. 1912: Beginn der (aktiv-passiven) Immunisierung.

27. 3. 12: Bei erster Auswertung in 1 ccm 1/60 I. E., danach Toxininjektion.

17. 4. 12: Bei 2. Auswertung in 1 ccm knapp 1/50 I. E., danach Toxininjektion.

27. 4. 12: Bei 3. Auswertung in 1 ccm 1/50 I. E.

2. 5. 12: 0,05 Salvarsan pro 1 kg intravenös.

6. 5. 12: Bei 4. Auswertung in 1 ccm 1/25 I. E.

Kaninchen: Kontrollnummer 6, Gew. 1650 g.

3. 3. 12: Beginn der (aktiven) Immunisierung.

28. 3. 12: Bei erster Auswertung in 1 ccm 1/75 I. E., danach 8 ccm 1/500 Di.-Tox.

6. 4. 12: Bei 2. Auswertung in 1 ccm 1/60 I. E., danach 6 ccm 1/400 Di.-Tox.

22. 4. 12: Bei 3. Auswertung in 1 ccm 1/20 I. E., danach 0,06 Salvarsan pro 1 kg + 6 ccm 1/400 Di.-Tox.

29. 4. 12: Bei 4. Auswertung in 1 ccm 1/4 I. E.

3. 5. 12: Bei 5. Auswertung desgl.

Also beide Male erfolgt nach der Salvarsangabe sehr deutliche Steigerung der Intensität der Antitoxinbildung.

II. Das Verhalten der bakteriziden Immunkörper.

Zur Erzeugung eines bakteriolytischen Immunserums dienten Kaninchen, als Antigen Choleravibrionen. Im

I. Versuch

wurden Kaninchen III (1860 g) und IV (1850 g) zwei Monate lang mit allmählich steigenden Mengen (½ Öse bis 3 Schrägkulturen

abgetöteter Cholerakultur, intraperitoneal) vorbehandelt. Versuchstier III erhält zu Beginn und zu Ende der Immunisierung 0,05 bezw. 0,04 Salvarsan pro kg Körpergewicht intravenös. Der mit den beiden Seris angestellte bakterizide Reagensglasversuch hatte folgendes Ergebnis:

Verdünnung des Immunserums	Anzahl der nach 24 stündiger Bebrütung bei 37° gewachsenen Kolonien.	
	Bei Verwendung d. I. S. III.	Bei Verwendung d. I. S. IV.
1 : 100	0	0
1 : 200	0	0
1 : 300	0	ca. 80 Kolonien
1 : 500	0	„ 100 „
1 : 800	10 Kolonien	„ 500 „
1 : 1000	30 „	„ 800 „

Ähnlich verlief ein

II. Versuch

mit Kaninchen V und VI, wo zur Immunisierung in der Hauptsache lebende Kulturen bei subkutaner Injektion Verwendung fanden. Kaninchen V erhielt 8 Tage vor der Blutentnahme außerdem 0,04 pro 1 kg Körpergewicht, also eine relativ kleine Dosis, Salvarsan intravenös. Auch hier ist der Unterschied in der Wirkung deutlich, wenn auch nicht so ausgeprägt wie oben.

Verdünnung des Immunserums.	Anzahl der nach 24 stündiger Bebrütung bei 37° gewachsenen Kolonien.	
	Bei Verwendung d. I. S. V.	Bei Verwendung d. I. S. VI.
1 : 100	3 Kolonien	46 Kolonien
1 : 500	80 „	ca. 1000 „
1 : 1000	ca. 800 „	„ 5000 „
1 : 1500	„ 10000 „	„ 100000 „
1 : 2000	„ 100000 „	mehrere 100000 „

Unter dem Einfluß des Salvarsans ergibt sich demnach eine Steigerung des bakteriziden Titers gegenüber entsprechend gewonnenen Kontrollseris um das 10—25fache.

III. Das Verhalten der bakteriotropen Antikörper.

Zur Auswertung der bakteriotropen Immunkörper diente die von Neufeld[1]) angegebene Untersuchungsmethodik im phagocytären Reagensglasversuch. Als Serumspender wurden zunächst Kaninchen, später Ziegen benutzt, die mit Diphtheriebazillen bezw. Meningokokken vacciniert wurden. In jedem Versuch wurden fallende Immunserummengen (s. Versuchsprotokoll) mit frisch gewonnenen Meerschweinchenleukocyten (2 Tropfen einer dichten Emulsion) und entsprechenden Bakterien 1½ Stunden bei 37° gehalten und danach in Ausstrichpräparaten (Methylenblaufärbung) der Grad der Phagocytose bestimmt. Es bedeuten +++ sehr starke Phagocytose, ++ starke Phagocytose und + deutliche Phagocytose.

I. Tropinversuch.

Kaninchen Nr. VII und VIII werden mit allmählich steigenden Mengen von Diphtheriebazillen immunisiert. Kaninchen Nr. VII erhält außerdem vier Tage vor der ersten bezw. sieben Tage vor der zweiten Blutentnahme 0,05 bezw. 0,03 Salvarsan pro 1 kg Körpergewicht.

Immunserum-Verdünnung	Resultat der I. Blutentnahme bei		Resultat der II. Blutentnahme bei	
	Nr. VII	Nr. VIII	Nr. VII	Nr. VIII
0,01	+++	++	+++	++
0,005	++	++	+++	++
0,002	++	+	++	+
0,001	+	+	+	±
0,0005	+	±	+	±
0,0002	+	±	±	±
Kontr.: 0,2 NaCl	±	±	0	±

Der bakteriotrope Titer der von dem mit Salvarsan behandelten Versuchstiere gewonnenen Serumproben übersteigt demnach den Titer der Kontrollproben um das 5- bezw. 4fache.

Der Reiz, den die Salvarsanzufuhr auf die Bildung der Bakteriotropine beim Kaninchen ausübt, scheint bald sein Optimum zu

[1]) Medizin. Klinik 1908 Nr. 30 und Arbeiten a. d. Kais. Gesundh.-Amt 1910, Bd. 34, Nr. 3.

erreichen und ist dann trotz wiederholter Salvarsaninjektionen nicht mehr zu steigern bezw. zu erreichen. Dies illustriert der folgende Versuch.

II. Tropinversuch.

Kaninchen V und VI, deren Serum bis 0,06 bezw. 0,05 schwache Spontanphagocytose zeigt, werden drei Wochen lang mit Meningokokken immunisiert, dann erhält Nr. V 0,03 Salvarsan pro kg Körpergewicht intravenös. Fünf Tage danach erfolgt die erste Blutentnahme; hierauf Weiterimmunisierung und bei Nr. V intravenöse Injektion von 0,02 Salvarsan pro kg. Nach sieben Tagen zweite Blutentnahme.

Es phagocytiert nach der ersten Blutung das Serum von Nr. V in der Verdünnung 0,001 deutlich, das Serum von Nr. VI bis 0,01 deutlich, das ergibt eine Wertdifferenz im Verhältnis 10:1.

Nach der zweiten Blutung ist Phagocytose bei Nr. V in Verdünnung 0,001 deutlich, bei Nr. VI in Verdünnung 0,002 deutlich, das ergibt einen Unterschied im Verhältnis 2:1.

Daß es sich dabei nicht um eine Zufälligkeit handelt, dafür scheint der gleiche Ausfall eines weiteren Versuches mit Diphtheriebazillen an Kaninchen III und IV zu sprechen.

III. Tropinversuch.

Vorversuch: Phagocytose 0 bis Serumverdünnung 0,05.

Nach siebenwöchiger Immunisierung erhält Kaninchen Nr. III intravenös 0,06 Salvarsan pro kg Körpergewicht. Danach deutliche Phagocytose bei Serum III bis 0,0005, bei Serum IV bis 0,002, das ergibt eine Differenz im Verhältnis von 4:1.

Nach Weiterimmunisierung und Reinjektion von Salvarsan bei Kaninchen Nr. III (0,03 pro kg) ergibt sich deutliche Phagocytose bei Serum III bis Verdünnung 0,0002, bei Serum IV mit Verdünnung 0,002, das ist eine Wertdifferenz im Verhältnis von 10:1.

Weiterimmunisierung und Wiederholung der letzten Salvarsandosis bei Kaninchen III hat zur Folge

bei Serum III Phagocytose + bis 0,0002
„ „ IV „ + bis 0,001,

d. h. Wertdifferenz im Verhältnis 5:1.

Weiterimmunisierung und Injektion von 0,015 Salvarsan pro

kg bei Kaninchen III zeigt Sinken des phagocytären Vermögens bei Serum III und weiteres Ansteigen bei IV:

bei Serum III Phagocytose + bis 0,0005
„ „ IV „ + bis 0,0005.

IV. Tropinversuch.

Zu einer länger durchgeführten Immunisierung an zwei Ziegen wurden lebende Meningokokken in steigenden Mengen intravenös injiziert. Ein Absinken des bakteriotropen Titers beim Salvarsantier im Verlauf der Immunisierung ließ sich hier nicht bemerken. Vor Beginn der Immunisierung zeigten beide Sera Spontanphagocytose bis 0,05. (Ausfall des Versuchs s. folgende Tabelle.)

Nach dem Ausfall des Versuchs, bei dem schließlich eine Steigerung der phagocytären Kraft des vom Salvarsantier stammenden Serums gegenüber dem entsprechenden Kontrollserum im Verhältnis von 50:1 resultiert, scheint die Vermutung gerechtfertigt, daß die Verhältnisse gerade bei größeren Versuchstieren für eine Steigerung des bakteriotropen Titers durch Salvarsan günstig liegen.

IV. Das Verhalten der komplementbindenden Antikörper.

Die Rolle, welche die komplementbindenden Antistoffe für das Zustandekommen der Immunität spielen, kann zurzeit wohl noch nicht als völlig geklärt gelten. Während von verschiedenen Autoren diesen Stoffen eine große Bedeutung hinsichtlich der Bemessung des Wertgehaltes eines Immunserums zugesprochen wird, wird ihnen von anderer Seite jede größere Bedeutung als Immunkörper im engeren Sinne abgesprochen. Unter diesen Umständen erschien es besonders interessant, zu prüfen, ob auch die Bildung der komplementbindenden Antikörper, wie es für die anderen Immunkörper in den vorstehenden Untersuchungen gezeigt werden konnte, durch Salvarsanbehandlung des Immuntieres eine Steigerung erfährt. Wie ich gleich vorweg bemerken möchte, ließ sich ein solches Verhalten für die komplementbindenden Stoffe nicht feststellen. Im Gegenteil, nicht selten war der Gehalt an diesen Stoffen im Serum des mit Salvarsan behandelten Tieres geringer als in dem vom entsprechenden Kontrolltier stammenden Serum.

Zur Bemessung der komplementbindenden Antikörper diente die Bordet-Gengousche Untersuchungsmethode in der von Wasser-

Tabelle des 4. Tropinversuchs. Ziege A.

Salvarsandosis intravenös	0,6 g	—	—	0,6	—	0,6
Phagocytose durch das Serum nach Blutung:	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
0,01	+	+ bis ++	++	++ bis +++	++ bis +++	+++
0,005	+	+	+	++	++ bis +++	++
0,002	±	±	±	+	+ bis ++	+ bis ++
0,001	0	±	±	schwach +	+	+ bis ++
0,0005	0	0	0	±	+	+
0,0002	0	0	0	0	±	+
0,0001	0	0	0	0	0	schwach +
NaCl-Kontrolle	0	0	0	0	0	0

Ziege B. (Kontrolle ohne Salvarsanbehandlung.)

Phagocytose durch das Serum nach Blutung:	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
0,01	±	±	+	+	+ bis ++	++
0,005	0	±	±	schw. ch +	+	+
0,002	0	0	0	±	±	±
0,001	0	0	0	0	±	fast 0
0,0005	0	0	0	0	fast 0	0
0,0002	0	0	0	0	0	0
0,0001	0	0	0	0	0	0
NaCl-Kontrolle	0	0	0	0	0	0

mann[1]) angegebenen Modifikation. Als Antigen gelangten bescheidene Extraktdosen der betreffenden Bakterienart, als Ambozeptor die doppelt lösende Dosis von einem Hammelblut-Kaninchenambozeptor, Titer 1 : 5000, sowie eine 5 $^{0}/_{0}$ige Lösung gewaschener Hammelblutkörperchen zur Verwendung. (Weiteres s. Versuchsprotokoll.)

Das im vorigen Kapitel erwähnte bakteriotrope Ziegen-Meningokokkenimmunserum (s. IV. Tropinversuch S. 147) zeigte in den Blutungen 4, 5 und 6 folgenden Gehalt an komplementbindenden Stoffen:

Immunserum	Meningokokken-Extr.	$^{1}/_{10}$ Komplement		4. Blutung		5. Blutung		6. Blutung	
				Ziege I. (Salvarsan)	Ziege II. (Kontrolle)	Ziege I. (Salvarsan)	Ziege II. (Kontrolle)	Ziege I. (Salvars.)	Ziege II. (Kontroll.)
0,25	0,25	0,5	1 Stde. bei 37°, dazu 0,5 Abc + 0,5 H'bl.	H. fast kplt.	H. kplt.	H. deutlich	H. deutlich	H. kplt.	H. kplt.
0,2	„	„		„ deutlich	„ dto.	„ dto.	„ dto.	„ dto.	„ dto.
0,1	„	„		„ Spur	„ fast kplt.	„ Spur	„ Spur	„ dto.	„ dto.
0,05	„	„		0	„ Spur	„ Spürchen	„ Spürchen	„ dto.	„ dto.
0,01	„	„		0	0	0	0	„ deutlich	„ deutlich
0,005	„	„		0	0	0	0	0	0
0,002	„	„		0	0	0	0	0	0
0,002	—	„		0	0	0	0	0	0
0,005	—	„		0	0	0	0	0	0
0,25	—	„		0	0	0	0	0	0
—	0,25	„		0	0	0	0	0	0
—	0,5	„		0	0	0	0	0	0

Beim Vergleich mit dem Verhalten der bakteriotropen Antikörper (Tabelle des IV. Tropinversuchs, Spalte IV—VI, S. 147) zeigt sich also ein bemerkenswerter Unterschied. Dort starke bakteriotrope Wertdifferenzen zugunsten des vom Salvarsantier stammenden Immunserums, hier kaum merkliche Unterschiede im Gehalt an komplementbindenden Stoffen.

Auch die Untersuchung einiger präzipitierender Sera auf komplementbindende Stoffe ergab ähnliche Resultate, bezw. bisweilen sogar stärkere Komplementablenkung bei der Kontrolle.

So fanden sich bei zwei präzipitierenden Cholerakaninchenseris, von denen das vom Salvarsantier stammende Trübung bis zu der Verdünnung 1 : 175 des Präzipitinogens, das entsprechende Kontrollserum Trübung jedoch nur in der Verdünnung 1 : 10 noch zeigte, für die komplementbindenden Stoffen folgende Werte:

[1]) Klinisches Jahrb. Bd. XV.

Immunserum:	vom Salvarsan-tier	von der Kontrolle
0,25	H. komplett	H. komplett
0,2	"	"
0,1	"	"
0,05	"	"
0,01	0	deutlich
0,005	0	Spur
0,002	0	0

Ein ähnliches Ergebnis hatte der Komplementbindungsversuch bei je zwei weiteren präzipitierenden Choleraseris, die von Kaninchen nach längerer Vorbehandlung in der vierten und fünften Blutentnahme gewonnen waren. Die vom Salvarsantier entnommenen Serumproben IV α und V α zeigten Präzipitation mit wäßrigem Choleraextrakt in Verdünnung 1:100. Die entsprechenden Kontrollsera IV β und V β präzipitierten mit Verdünnungen desselben Extrakts bis 1:25 bezw. 1:50. Beim Komplementbindungsversuch ergab sich komplette Hemmung der Hämolyse bei

Serum	IV α	bis zur	Verdünnung	0,01
"	IV β	" "	"	0,005
"	V α	" "	"	0,001
"	V β	" "	"	0,001.

Niemals also zeigt sich eine Steigerung des komplementbindenden Titers eines Immunserums durch Salvarsan. Im Gegenteil, meist liegt der komplementbindende Titer des vom Salvarsantier gewonnenen Serums niedriger als bei der Kontrolle. Es steht dies Verhalten der komplementbindenden Stoffe im Gegensatz zu allen anderen normalen (Hämolysine und Opsonine) und Immunantikörpern (Agglutinine, Antitoxine, Bakteriolysine, Bakteriotropine [und Präzipitine s. u.]).

V. Das Verhalten der Präzipitine.

Als Versuchstiere zur Erzeugung von präzipitierenden Seris wurden Kaninchen, als Antigen Choleravibrionen benutzt. Als Präzipitin diente ein wäßriger Choleraextrakt, der gewonnen war durch Abschwemmen des Kulturrasens gut bewachsener Kollescher Schalen mit je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung, 48 stündiges Schütteln und darauffolgendes Klarzentrifugieren.

Im

I. Versuch

wurden Kaninchen I und II mit allmählich steigenden Mengen (1/2 Öse bis 1/2 Schrägkultur) lebender Choleraagarkultur subkutan injiziert. nach sechs Wochen eine Probeblutentnahme gemacht und darauf Kaninchen I 0,04 Salvarsan pro kg Körpergewicht subkutan injiziert. Beide bei der Probeblutentnahme gewonnenen Kaninchensera zeigten Präzipitation mit der Extraktverdünnung 1:10 (nach 15 Minuten langer Besichtigungszeit diffuse Trübung). Bei der zweiten Blutentnahme drei Tage nach der Salvarsaninjektion ergab sich folgendes Resultat:

Wäßriger Cholera-Extrakt.	Besichtigungszeit.	Serum von Kaninchen I.	Serum von Kaninchen II.
unverdünnt	sofort	+ Ring	Trübung
	nach 5 Minuten	+++ Ring	+ Ring
	nach 15 Minuten	+++ Ring	++ Ring
1:5	sofort	Trübung	0
	nach 5 Minuten	+ Ring	0
	nach 15 Minuten	++ Ring	Trübung
1:10	sofort	0	0
	nach 5 Minuten	Trübung	0
	nach 15 Minuten	+ Ring	Spur Trübung
1:25	sofort	0	0
	nach 5 Minuten	0	0
	nach 15 Minuten	Trübung	0
1:50	sofort	0	0
	nach 5 Minuten	0	0
	nach 15 Minuten	Spur Trübung	0
1:100	sofort	0	0
	nach 5 Minuten	0	0
	nach 15 Minuten	fast 0	0

Während also beim Kontrolltier der Titer derselbe blieb, stieg er unter dem Einfluß der Salvarsaninjektion auf das 2 1/2- bezw. 5fache des vorigen.

In einem

II. Versuch

wurden die Kaninchen V und VI mit steigenden Mengen subkutan einverleibter abgetöteter Choleraagarkultur (2 Ösen bis 1 Schrägkultur) vorbehandelt. Nach fünf Wochen erfolgte Probeblutentnahme, danach bei Kaninchen V intravenöse Infusion von 0,04 Salvarsan pro kg Körpergewicht. Fünf Tage später wurde von

beiden Versuchstieren erneut Blut entnommen. Die bei der ersten Blutentnahme gewonnenen Sera zeigten ringförmige Trübung mit dem Choleraextrakt in der Verdünnung 1:10. Das Resultat des zweiten Präzipitationsversuchs folgt unten.

Wäßriger Cholera-Extrakt	Besichtigungszeit	Präzipitierendes Serum von	
		Kaninchen V.	Kaninchen VI.
Unverdünnt	sofort	+ Ring	Trübung
	nach 15 Min.	++ Ring	+ Ring
	nach 1/2 St.	+++ Ring	++ Ring
1:5	sofort	+ Ring	0
	nach 15 Min.	++ Ring	schwacher Ring
	nach 1/2 St.	+++ Ring	++ Ring
1:10	sofort	Trübung	0
	nach 15 Min.	+ Ring	Spur Trübung
	nach 1/2 St.	++ Ring	+ Trübung
1:25	sofort	Trübung	0
	nach 15 Min.	+ Ring	0
	nach 1/2 St.	++ Ring	0 (?)
1:50	sofort	schwache Trübung	0
	nach 15 Min.	+ Ring	0
	nach 1/2 St.	+ Ring	0
1:100	sofort	0	0
	nach 15 Min.	schwacher Ring	0
	nach 1/2 St.	+ Ring	0
1:150	sofort	0	0
	nach 15 Min.	schwache Trübung	0
	nach 1/2 St.	schwache Trübung	0
1:175	sofort	0	0
	nach 15 Min.	0	0
	nach 1/2 St.	Spur Trübung	0
1:200	sofort	0	0
	nach 15 Min.	0	0
	nach 1/2 St.	0	0

Der Unterschied ist hier bedeutend schärfer ausgeprägt als im ersten Präzipitationsversuch. Der Wertanstieg beim präzipitierenden Serum V erscheint direkt sprungartig. Dies könnte auf eine bessere Wirkung der intravenösen Einverleibung des Salvarsans schließen lassen.

In einem

III. Versuch

wurden Kaninchen Nr. III und Nr. IV mit intraperitoneal einverleibter, abgetöteter Cholerakultur (1/2 Öse bis 1 Schrägkultur)

Beeinflussung der Bildung der Präzipitine

Blutentnahme:		Nr. I.		Nr. II.	
Wäßriger Cholera-Extrakt	Besichtigungszeit	Serum I α (Salvarsan)	Serum I β	Serum II α (Salvarsan)	Serum II β
Unverdünnt	Sofort	++ Ring	0	+++ Ring	schwache Trübung
	nach 15 Min.	dto.	+ Trübung (diffus)	dto.	++ Ring
Verd. 1 : 2	Sofort	+ Ring	0	++ Ring	0
	nach 15 Min.	++ Ring	Spur Trübung (diffus)	dto.	+ Trübung (diffus)
Verd. 1 : 5	Sofort	Spur Trübung	0	+ Trübung (diffus)	0
	nach 15 Min.	+ Trübung (diffus)	Spürchen Trübung	++ Trübung (diffus)	Spur Trübung (diffus)
Verd. 1 : 10	Sofort	0	0	0	0
	nach 15 Min.	Spur Trübung	0	+ Trübung (diffus)	0
Verd. 1 : 25	Sofort	0	0	0	0
	nach 15 Min.	0	0	0	0
Verd. 1 : 50	Sofort	0	0	0	0
	nach 15 Min.	0	0	0	0
Verd. 1 : 100	Sofort	0	0	0	0
	nach 15 Min.	0	0	0	0
		Kontrollen:			
Cholera-Extrakt + Normalkon.-Serum		0	—	0	—
NaCl + betreff. spez. Serum		0	0	0	0

in wöchentlichen Pausen während fünf Wochen vorbehandelt. Bei der ersten und zweiten Kulturinjektion erhielt Kaninchen III gleichzeitig 0,05 bezw. 0,04 Salvarsan pro kg Körpergewicht intravenös injiziert Die beiden Sera hatten spontanes Präzipitationsvermögen nicht gezeigt. Bei der ersten Blutentnahme während der Immunisierung 27 bezw. 21 Tage nach der Salvarsaninjektion zeigte sich, wie aus der unten folgenden Übersicht hervorgeht, ein deutlicher Unterschied im Präzipitationsvermögen von Kaninchen III und IV.

durch Salvarsan. Übersicht des 3. Versuchs.

Nr. III.		Nr. IV.		Nr. V.	
Serum III α (Salvars.)	Serum III β	Serum IV α (Salvarsan)	Serum IV β	Serum V α (Salvarsan)	Serum V β
+ Ring	Spur Trübung	+++ Ring	schwacher Ring	++ Ring	+ Ring
+++ Ring	++ Ring	dto.	++ Ring	+++ Ring	+++ Ring
schwacher Ring ++ Ring	0 + Trübung (diffus)	+++ Ring dto.	Spur Trübung + Ring	+ Ring ++ Ring	+ Trübung ++ Trübung
Spur Trübung	0	+ Ring	0	Spur Trübung	0
+ Ring	Spur Trübung (diffus)	+++ Ring	+ Ring	++ Ring	+ Trübung
0	0	Trübung	0	Spürchen Trübung	0
Spur Trübung (diffus)	Spur Trübung (diffus)	++ Ring	+ Trübung (diffus)	+ Ring	diffuse Trübung
0	0	Trübung	0	Spürchen Trübung	0
Spürchen Trübung	0	+ Ring	Spur Trübung	+ Trübung	Spur Trübung
0	0	0	0	0	0
0	0	+ Trübung (diffus)	0	schwache Trübung	fast 0
0	0	0	0	0	0
0	0	+ Trübung (diffus)	0	Spur Trübung	0
Kontrollen:					
0	—	0	—	0	—
0	0	0	0	0	0

Der Unterschied dokumentiert sich weniger in einer Erhöhung des Titers als vielmehr in einem stärkeren Auftreten der Reaktion in den einzelnen Verdünnungen gegenüber dem Kontrollserum. Im Laufe der Weiterimmunisierung (2½ Schrägkulturen intraperitoneal) erfolgte sieben Tage nach der ersten die zweite Blutentnahme. Unmittelbar danach erneute Antigeninjektion (3 Schrägkulturen intraperitoneal) und sieben Tage später intravenöse Injektion von 0,04 Salvarsan pro kg. Die dritte Blutentnahme wurde bereits zwei

Tage nach der Salvarsaninfusion vorgenommen. Neun Tage nach der dritten Blutentnahme erfolgte bei Weiterbehandlung die vierte und wieder eine Woche später die fünfte Blutentnahme.

Die Resultate der einzelnen Präzipitationsversuche ergeben sich aus der Übersicht (s. Tabelle). Danach scheint in der Zwischenzeit zwischen erster und zweiter Blutentnahme die Zunahme der präzipitierenden Antikörper in den Seris beider Versuchstiere eine ziemlich gleichmäßige Steigerung erfahren zu haben. Jedenfalls hat das vom Salvarsantier stammende Serum seinen deutlichen Vorsprung im Gehalt an Präzipitinen behalten. Die kurz vor der dritten Blutentnahme vorgenommene Salvarsaninjektion scheint nun, wie der Ausfall der dritten Versuchsreihe zeigt, zunächst eine Art negative Phase zur Folge gehabt zu haben, da in dem vom Salvarsantier stammenden Serum nicht nur nicht eine Vermehrung, sondern eher eine Verminderung an präzipitierenden Stoffen augenscheinlich wird, während das Kontrollserum denselben Gehalt bezw. eine geringgradige Steigerung an Präzipitinen zeigt, wie bei der zweiten Blutentnahme. Deutlich wird der antikörpersteigernde Reiz des Salvarsans wieder in der vierten Blutentnahme, die zwölf Tage nach der letzten Salvarsaninjektion vorgenommen wurde. Die Wertdifferenz findet hier ihren höchsten Ausdruck und zeigt eine Überlegenheit des vom Salvarsantier stammenden Serums gegenüber der Kontrolle um das Vierfache. In der letzten Blutentnahme wird wieder ein Nachlassen in der Wirkung des Chemikale deutlich, und zeigt sich hier ein Unterschied im Gehalt an präzipitierenden Stoffen in beiden Seris nur noch im Verhältnis 2:1.

Überblicken wir das Gesamtresultat vorstehend geschilderter Einzeluntersuchungen, so hat sich zeigen lassen, daß die von Friedberger und Masuda[1]) für das Salvarsan festgestellte Fähigkeit der Steigerung der Produktion der agglutinierenden Antikörper beim Kaninchen in gleichem Maße zutrifft hinsichtlich der Immunkörper im engeren Sinne (der Antitoxine, der bakteriziden und bakteriotropen Antikörper), sowie hinsichtlich der Präzipitine, und zwar außer bei Kaninchen noch bei Meerschweinchen und Ziegen. Eine Ausnahme scheinen nur die komplementbindenden Stoffe zu machen, für die sich eine Zunahme unter dem Einfluß des Salvarsans nicht erweisen ließ.

Es erscheint danach der Schluß gerechtfertigt, daß die für

[1]) a. a. O.

mehrere Arsenverbindungen von Agazzi[1]) festgestellte eigentümliche Fähigkeit, die Intensität der Antikörperproduktion zu steigern, dem Salvarsan in besonders hohem Maße zukommt. Damit wäre weiter der Beweis geliefert für die Richtigkeit der von Ehrlich[2]) von Anbeginn ausgesprochenen Hypothese, daß das Arsenobenzol infolge einer, auf die Antikörper produzierenden Organe ausgeübten Reizwirkung im Tierkörper eine erhebliche Steigerung seiner Wirksamkeit erfährt.

---

[1]) Zeitschr. f Immunitätsforsch. und experiment. Therapie 1909.

[2]) Referatteil der Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1911, 20. Mai.

Aus der kgl. bakteriologischen Untersuchungsanstalt Erlangen
Professor W. Weichardt
und aus dem chemisch-biologischen Laboratorium der IV. Abteilung des St. Rochus Spitales der Haupt- und Residenzstadt Budapest.
Professor Stephan v. Tóth.

Über neue Ergebnisse der Studien mit der Epiphaninreaktion.

Von

Eugen Rosenthal.

Mit 20 Textabbildungen.

In jüngster Zeit wurden ausgedehnte Versuche mit der Epiphaninreaktion Weichardts angestellt, welche einerseits zu einer Vereinfachung ihrer Methodik führten, anderseits dazu geeignet sind, dieser neuen Methode eine weitere Verbreitung zu sichern. In einer großen Reihe von Fällen konnte gezeigt werden, daß diese Methode sich mit wenigen Ausnahmen ganz allgemein zum Nachweis von Antigen-Antikörperreaktionen sehr gut eignet und daß sie an Feinheit die bisher uns zur Verfügung stehenden Methoden übertrifft. — Die Versuche wurden einstweilen an Tieren, namentlich an Meerschweinchen ausgeführt, um zu sehen, wie sich die Reaktion verhält, wenn eine bestimmte Infektion experimentell erzeugt wird, also sicher vorhanden ist. In diesen Versuchen wurden stets Meerschweinchen verwendet und alle Erfahrungen, welche wir auf diesem Gebiet gewonnen haben, beziehen sich auf Meerschweinchensera. — Mit Menschenserum habe ich meinerseits nur sehr wenig Erfahrungen, indessen hat es den Anschein, als wären unsere die am Tierversuch erhaltenen Resultate nicht unmittelbar auf den Menschen übertragbar; dies scheint auch aus den diesbezüglichen Arbeiten Meyers[1]) aus dem Lesserschen Institut, sowie aus der Arbeit von Semibratow[2]) hervorzugehen; denn namentlich der Kurvenverlauf ist mit dem unserer Meerschweinchenversuche nicht ganz identisch. — Für die menschliche Pathologie sind also unsere Resultate nicht unmittelbar übertragbar.

[1]) F. M. Meyer, Berliner klin. Wochenschr. 1912, Nr. 6.

[2]) Semibratow, W. Die Epiphaninreaktion. Serodiagnostik der Lues nach Weichardt. (Wojenno-medicinsk. Journ. 96, S. 307, 1912.)

I.

Das Prinzip der Epiphaninreaktion liegt bekanntlich darin, daß ein in der Oberflächenbildung begriffenes System, durch die Antigen-Antikörperbindung beeinflußbar ist und daß durch dieselbe der Umschlagspunkt des beim Versuch eingeschalteten Indikators, des Phenolphtaleins, verschoben wird. Die E.R. wird nun in der Weise ausgeführt, daß man ein aufeinander eingestelltes $Ba(OH)_2$ — H_2SO_4 System einmal bestimmten Verdünnungen von Antigen und Antiserum zufügt, nachdem dieselben aufeinander eingewirkt haben (1. Gefäß) und in einem zweiten Fall, wo eine gegenseitige Einwirkung von Antigen und Antiserum noch nicht stattfand (2. Gefäß). Fügen wir nun Phenolphtalein hinzu, so finden wir, daß, wenn der betreffende spezifische Antikörper vorhanden ist, bei einer bestimmten Verdünnung desselben der Umschlagspunkt im 1. Gefäß, der Kontrolle gegenüber, noch nicht eintritt, wenn derselbe im 2. Gefäß bereits zu sehen ist. Dieser Unterschied kann durch $\frac{n}{1000}$ H_2SO_4-Lösung ausgeglichen werden und die Menge dieser Lösung, welche dazu nötig ist, um in beiden Gefäßen den gleichen Farbenton zu erhalten, gibt den Ausschlag des Versuches. In genau derselben Weise wird die Reaktion mit 3 verschiedenen Serumverdünnungen (gewöhnlich für 10^{-4}, 10^{-6} und 10^{-8}, außerdem wenn nötig für 10^{-3}) ausgeführt, woraus sich eine Kurve ergibt. Der Verlauf der Kurve zeigt dann den positiven oder negativen Ausfall der Reaktion an. Die Abmessung der zur Reaktion nötigen Barytlauge bzw. Schwefelsäuremengen muß absolut genau erfolgen. Da zu diesem Zweck die gewöhnlichen Meßapparate, wie Büretten und Pipetten sich nicht eignen, sind zu diesem Zweck die Weichardtschen Mikrapipetten zu verwenden.

Die Ausführung, sowie die Einzelheiten der Methodik sind in den Arbeiten von Weichardt[1]) und Stötter[2]) eingehend besprochen, so daß wir auf dieselbe hier nur hinweisen wollen. Indessen ist zu erwähnen, daß zur Erzielung verläßlicher und genauer Resultate ein absolut exaktes Arbeiten eine unerläßliche Bedingung ist. Wer für ein chemisch-analytisches Arbeiten keinen Sinn hat und die möglichen Fehlerquellen nicht genügend kennt, muß sich zuvor in dieser Richtung einige Erfahrung sammeln,

[1]) W. Weichardt, Zeitschr. f. Immunitätsforschung Bd. 6, Heft 4. Derselbe, Berliner klin. Wochenschr. 1911, Nr. 43.
[2]) H. Stötter, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. XI, S. 749.

sonst bleiben ihm Enttäuschungen nicht erspart. In den oben erwähnten Arbeiten. sowie in weiteren Mitteilungen sind alle Punkte eingehend besprochen, welche man berücksichtigen soll, und nur, wenn man sich in die Methodik einigermaßen eingearbeitet hat, kommt man zu ganz verläßlichen, verwertbaren Resultaten.

Zur Erleichterung und Vereinfachung der Technik dient die von mir zu diesem Zweck angegebene Spiralpipette, welche von der Firma Lautenschläger in Berlin hergestellt wird. Dieselbe bietet eine Reihe von Vorteilen, von welchen ich an dieser Stelle nur erwähnen möchte, daß dieselbe auch einem weniger geübten Experimentator stets genau dieselben Mengen der Säure bzw. der Lauge abzumessen gestattet und daß durch dieselbe — eine entsprechende Einübung vorausgesetzt — die Dauer eines Versuches bedeutend verkürzt wird. Die Spiralpipette besteht im Wesen aus einer spiralig verlaufenden Glasröhre, welche durch die Drehung eines doppelt durchbohrten Glashahnes von 2 verschiedenen Büretten aus gefüllt werden kann. — Eine genaue Besprechung des Apparates befindet sich in meiner I. Mitteilung über die Epiphaninreaktion[1]), so daß wir auf eine solche hier verzichten können.

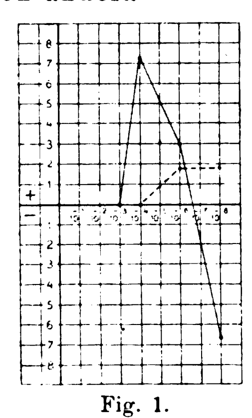
II.

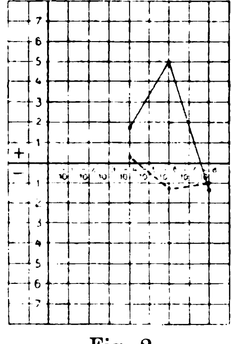
Tuberkulose. In einer Reihe von Versuchen habe ich in Gemeinschaft mit Stötter die Frage studiert, wie sich die Epiphaninreaktion bei Tuberkulose verhält.[2]) Es kamen zu diesen Versuchen stets Meerschweinchen zur Verwendung, deren Blutserum wir vor der ersten Impfung, sowie nach der Infektion untersuchten und das Resultat der serologischen Untersuchung stets mit den anatomischen Veränderungen verglichen. — Als Antigen bewährte sich bei unseren Versuchen das albumosenfreie Tuberkulin Höchst, wogegen sich das Kochsche Alttuberkulin zu unsern Zwecken kaum brauchbar erwies. Die Reaktionen wurden stets unter Antikenotoxinzusatz zum Antigen und mit wenigstens 2 Tage hindurch aufbewahrten (Eisschrank-Karbol) Seris ausgeführt. Von unsern Kurven möchte ich hier einige anführen, welche ganz besonders geeignet sind, die Feinheit und Genauigkeit der Reaktion hervortreten zu lassen. Das Blutserum eines Meerschweinchens wurde vor der Infektion mit Tuberkelbazillen und 20 Tage nachher mit der Epipha-

[1]) E. Rosenthal, I. Mitteilung. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. XIII, Heft 4, S. 383.

[2]) H. Stötter und E. Rosenthal, II. Mitteilung. Ebenda.

ninreaktion untersucht. Das Resultat war gegenüber dem negativen Anfangswerte (unterbrochene Linie) eine stark positive Kurve[1]) (Fig. 1), welche mit dem positiven Sektionsbefund bestens übereinstimmte. In einem weiteren Fall wurde der Versuch ganz ähnlich eingestellt. Die Kurve, welche wir nach der Infektion erhielten, verläuft ausgesprochen positiv. Ich möchte dieselbe hier anführen, weil die Kurve, welche wir vor der Infektion erhielten, einen typischen negativen Verlauf zeigt; dieser in Fig. 2 wiedergegebene Versuch zeigt also recht deutlich, daß sich das Serum während der Infektion ändert.


Fig. 1.


Fig. 2.

Weitere Versuche, welche ich noch anführen könnte, zeigen ebenso wie diese, daß die Epiphaninreaktion zum Nachweis von tuberkulösen Antikörpern beim Meerschweinchen geeignet ist. (In welcher Weise die Reaktion bei einer weniger starken Infektion hervortritt, wissen wir noch nicht.)

[1]) Zum leichteren Verständnis der folgenden Kurven möchte ich kurz bemerken, daß im allgemeinen eine Kurve eine negative Reaktion bedeutet, wenn ihr höchster Punkt nicht über 2 ccm $\frac{n}{1000}$ H_2SO_4 liegt, der Gipfel der Kurve kann dabei nach oben wie nach unten gerichtet sein, obzwar eine Kurve mit nach unten gerichteter Spitze einen stärkeren negativen Ausfall der Reaktion anzudeuten scheint. Positiv sind dagegen jene Kurven zu betrachten, wo zum Ausgleich des Farbenunterschiedes mehr als 2 ccm der obigen Schwefelsäurelösung nötig waren, und wo die Spitze der Kurve nach oben gerichtet ist. Die Höhe der Kurve, bzw. die Differenz zwischen dem größten negativen und positiven Ausschlag scheint mit der Stärke der Reaktion in einem geraden Verhältnis zu stehen. — Die punktiert ausgezogenen Kurven zeigen das Verhalten des Blutserums vor der Behandlung des Tieres, während die ausgezogenen Linien das Endresultat des Versuches vorstellen.

III.

Diphtherie. Daß Diphtherietoxin und Diphtherieheilserum ein geradezu klassisches Objekt für die Epiphaninreaktion vorstellt, konnte bereits von Stötter gezeigt werden. Da die Reaktion hier stets am deutlichsten und mit relativ großen Ausschlägen in Erscheinung tritt, möchte ich empfehlen, beim Studium der Epiphaninreaktion, etwa zur Aneignung der Technik, zunächst mit Diphtherietoxin und dessen spezifischem Serum zu arbeiten. Wir erhielten dabei stets sehr deutliche Kurven. Als Antigen verwendeten wir meist Höchster Diphtherietoxin (5 fach) und Diphtherietoxin Amerika I (Dos. let. 0,006 in 2 Tagen) als Antiserum teils Höchster, teils Dresdener Diphtherieheilserum. In einem Fall kam ein Dresdener Serum 2 Tage nacheinander, und dann 2 Monate später zur Untersuchung (Fig. 3—5).

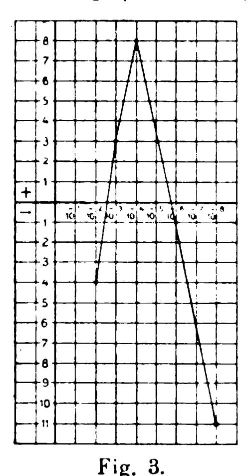


Fig. 3.

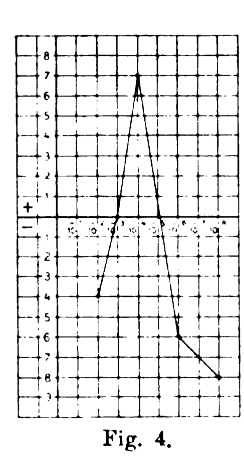


Fig. 4.

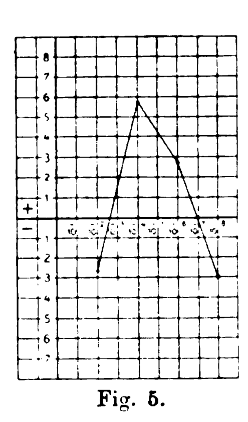


Fig. 5.

Es zeigte sich, daß die erste, wie auch die zweite Kurve stark positiv ist, daß zwischen ihnen ein kaum erwähnenswerter Unterschied vorhanden ist, während die Kurve, welche bei der 2 Monate später ausgeführten Untersuchung gewonnen wurde (Fig. 5), schwächer positiv ausfiel. Indessen ist auch diese Kurve noch immer als positiv anzusehen.

IV.

Streptokokken, Staphylokokken, Gonokokken.[1]) Zufolge der Schwierigkeiten, welche den Nachweis der spezifischen

[1]) E. Rosenthal, III. Mitteilung. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. XIII.

Antikörper dieser Mikroorganismen erschweren bzw. unmöglich machen, waren Untersuchungen in dieser Richtung mit der Epiphaninreaktion besonders erwünscht. Als Antigene wurden die abgetöteten Glyzerinwasseraufschwemmungen der betreffenden Kokken verwendet. Mit demselben Antigen wurde auch die Immunisierung der Versuchstiere in steigenden Dosen 3 Wochen hindurch vorgenommen, 8 Tage nach der letzten Impfung wurden die Tiere entblutet und 2 Tage später deren Serum untersucht. Bei einem solchen Versuche erhielt ich die in Fig. 6 wiedergegebene Kurve: dieselbe zeigt vor der ersten Impfung einen entsprechenden schwach negativen Verlauf, dagegen wurde nach der vorhin beschriebenen Be-

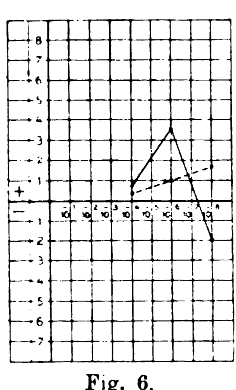


Fig. 6.

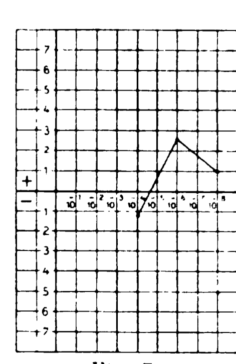


Fig. 7.

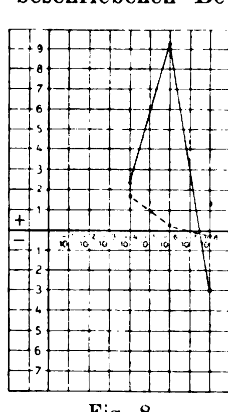
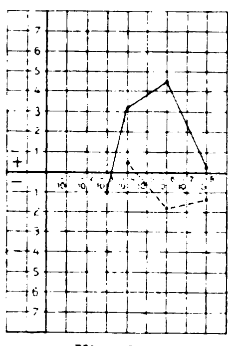


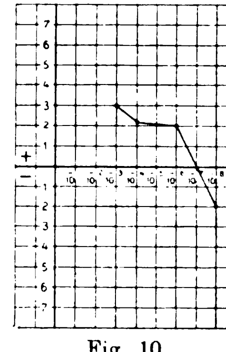
Fig. 8.

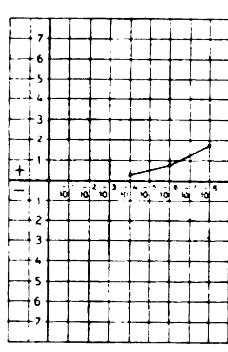
handlung mit einem bestimmten Streptokokkenstamm eine positive Kurve erhalten.

Man erhält ähnlich stark positive Resultate, wenn man ein Streptokokken-Antigen mit dem homologen Immunserum zusammenbringt. Verwendet man indessen zur Reaktion ein bestimmtes Antigen und ein heterologes Immunserum, d. i. ein Serum, welches durch die Immunisierung mit einem andern monovalenten Antigen gewonnen wurde, so erhält man scheinbar weniger positive Kurven, bei welchen sich dann besonders eine geringere absolute Höhe im Ausschlag derselben beobachten läßt. Dies zeigt Fig. 7, wo das Antiserum einem andern Streptokokkenstamm entspricht. Die größten Ausschläge konnte ich indessen bei der Immunisierung mit einem „polyvalenten" Antigen erhalten (Fig. 8), wo die Differenz zwischen dem größten negativen und positiven Wert mehr als 12 ccm $\frac{n}{1000}$ H_2SO_4 beträgt.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden verschiedene Streptokokkensera des Handels auf ihr Verhalten bei der Epiphaninreaktion untersucht, wobei verschiedene Antigene zur Verwendung kamen. Unser monovalentes Streptokokkenantigen ergab mit dem Moserschen Scharlachserum (Höchster Farbwerke) keine positive Reaktion, dagegen erhielt ich bei Verwendung eines polyvalenten Antigens ein ganz schwaches positives Resultat. Ein negatives Resultat erhielt ich ferner mit dem Menzerschem monovalentem Serum, ob das verwendete Antigen monovalent oder polyvalent war. Eine deutlich positive Kurve ergab dann der Versuch, als unser polyvalentes Antigen mit dem polyvalenten Aronsonschen Serum zusammen-


Fig. 9.


Fig. 10.


Fig. 11.

gebracht wurde. — Eine erhebliche positive Reaktion konnte also nur in jenen Fällen erhalten werden, wo polyvalentes Antigen auf polyvalentes Serum wirkte. Die mit monovalenten Antigenen und Seren ausgeführten Reaktionen fielen negativ aus.

Bei den Staphylokokkenversuchen wurde im Prinzip ebenso vorgegangen, wie für die Streptokokken beschrieben. Ein Antigen, hergestellt mit einer Aufschwemmung von Staphylococcus albus, reagierte mit dem entsprechenden Immunserum positiv (Fig. 9), dagegen nahm die Kurve wohl einen positiven, aber etwas atypischen Verlauf, wenn an Stelle des homologen Immunserums ein Antiserum eines anderen Stammes (Staph. aureus) verwendet wurde (Fig. 10).

Mit Gonokokken wurden relativ wenig Versuche ausgeführt, indessen zeigen auch diese, daß die Reaktion nach der Immunisierung, im Gegensatz zum negativen Anfangswert, positiv ausfiel. Die in Fig. 11 niedergelegte Kurve ist das Ergebnis eines Kontrollversuches, in welchem das Londoner Gonokokkenantigen mit dem Aronsonschen polyvalenten Streptokokkenserum zusammengebracht

wurde: das Resultat ist negativ. Von einer unspezifischen Beeinflussung unserer Reaktion durch das Gonokokkenvakzin kann somit keine Rede sein.

V.

Differenzierung verschiedener Eiweißarten.[1]) Die in dieser Richtung ausgeführten Untersuchungen beziehen sich vornehmlich auf das Nieren- und Krebseiweiß.

Bei der Herstellung des Nierenantigens habe ich mich folgender Anordnung bedient: In die Aorta thoracalis der durch Entbluten getöteten Meerschweinchen wurde eine Glaskanüle gebunden, durch welche die Bauchorgane des Tieres mit physiologischer Kochsalzlösung so lange gespült wurden, bis das Spülwasser an der Vena cava inf. farblos zurückfloß. Die betreffenden Organe wurden dann

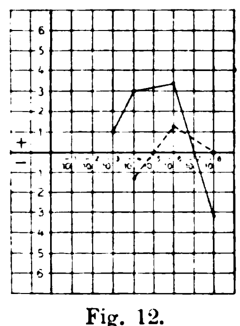


Fig. 12.

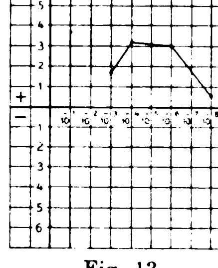


Fig. 13.

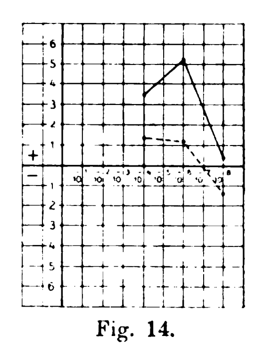
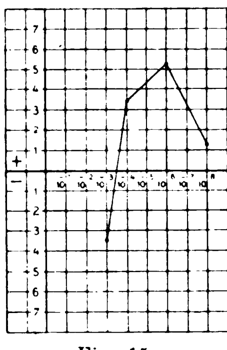


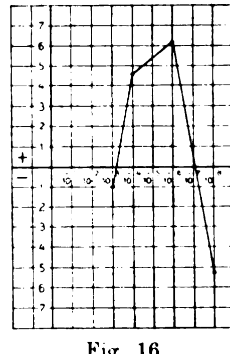
Fig. 14.

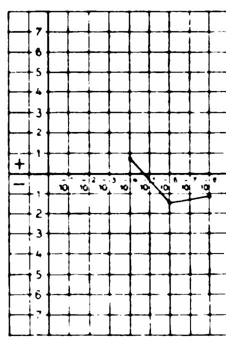
herauspräpariert, zerschnitten, mit gleichen Mengen Quarzsandes verrieben und mit 20 % Glyzerinwasser im Verhältnis von 1:10 etwa 2 Tage lang extrahiert und schließlich zentrifugiert. Auf diese Weise erhält man ein sehr gut haltbares Extrakt, welches man als Antigen und zur Immunisierung der Tiere gleich gut verwenden kann. — Letztere geschah im Verlauf von 10—21 Tagen mittels intraperitonealer Injektionen; das Serum der Tiere wurde auch bei diesen Versuchen vor der Immunisierung untersucht. Die Sera kamen stets nach 2 tägiger Aufbewahrung, das Antigen unter Antikenotoxinzusatz zur Verwendung (s. I. Mitteilung). Die diesbezüglichen Untersuchungen wurden zur Beantwortung der Frage ausgeführt, ob Organeiweiße, wie das Nieren- und Lebereiweiß, ferner die Eiweißkörper von Geschwülsten eine antigene Eigenschaft besitzen, bzw. ob bei der Immunisierung von Meerschweinchen mit

[1]) E. Rosenthal, IV. Mitteilung. Zeitschr. f. Immunitätsforsch.

diesen Stoffen im Blutserum derselben Substanzen auftreten, welche mit der Epiphaninreaktion nachweisbar sind. — Bezüglich des Niereneiweißes konnte diese Frage im positiven Sinne beantwortet werden, indem das Serum der zum Versuch herangezogenen Tiere vor der Immunisierung negativ reagierte, während eine nach derselben ausgeführte Bestimmung zu einer positiven Kurve führte. Als Beispiel hierfür möchte ich einen Versuch anführen, welcher in Fig. 12 ausgeführt ist. Erfolgt die parenterale Aufnahme und Resorption von Niereneiweiß nicht durch Injektionen, sondern durch Zerfall des eigenen Nierenparenchyms, wie dies bei akuter Nephritis zufolge der parenchymatösen und fettigen Degeneration der Fall ist, so reagiert der Organismus ebenfalls durch die Produktion von spezifischen


Fig. 15.


Fig. 16.


Fig. 17.

Antikörpern, genau so, als führte man die betreffende Eiweißart intraperitoneal oder subkutan ein. Dies scheint bereits aus den wenigen Versuchen hervorzugehen, welche ich in dieser Richtung durch die experimentelle Erzeugung einer akuten Nephritis durch subkutane Einspritzung 0,5 $^0/_0$iger Urannitratlösung, ausgeführt habe. Die Resultate, welche ich bei diesen Versuchen erhielt, sind in Fig. 13 und 14 wiedergegeben.

Aus denselben ist ohne weiteres zu ersehen, daß mit Hilfe der Epiphaninreaktion das Vorhandensein der betreffenden spezifischen Reaktionskörper nachweisbar ist.

Indessen führten andere in ganz analoger Weise mit Lebereiweiß ausgeführte Versuche zu einem durchweg negativen Resultat; wofür ich allerdings keine Erklärung anzuführen vermag.

Schließlich habe ich bei einer Versuchsreihe das Verhalten des Krebseiweißes untersucht; zu diesen Versuchen wurden Mäusetumoraufschwemmungen herangezogen. Zuerst wurden 2 Meerschweinchen

durch etwa 12 Tage mit einem Glyzerinwasserextrakt einer menschlichen Krebsgeschwulst behandelt. Die Resultate dieser beiden Versuche sind in Fig. 15 und 16 zu sehen; beide Kurven sind sehr stark positiv. Zu einem ähnlichen Ergebnis führte ein weiterer Versuch. Für weitere Versuche wurden ebenfalls Mäusetumoren herangezogen. Die Antigene wurden in der erwähnten Weise hergestellt, und zunächst wurde nachgesehen, ob dasselbe mit dem Serum von normalen nicht karzinomatösen Mäusen keinen Ausschlag gab: die diesbezüglichen Versuche führten zu einem befriedigenden Ergebnis, indem die erhaltenen Ausschläge beinahe gleich Null sind (Fig. 17 und 18). Dann wurden Sera von Krebsmäusen untersucht, meist solche, die vor ungefähr 3—4 Wochen geimpft worden waren. — Diese Versuche führten zu einem positiven Resultat, was

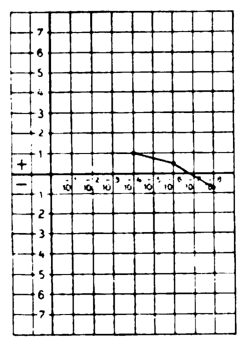


Fig. 18.

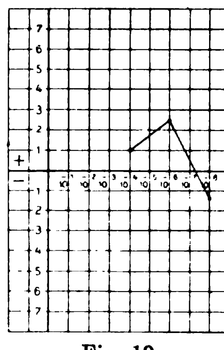


Fig. 19.

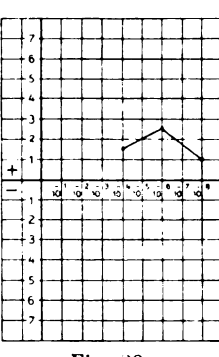


Fig. 20.

auch die hier angeführten Kurven zeigen (Fig. 19 und 20), so daß wir nun behaupten können, daß allem Anschein nach die Epiphaninreaktion zum Nachweis spezifischer im Krebsgewebe vorhandener Eiweißkörper nicht ungeeignet ist, obzwar allerdings zu bemerken ist, daß die Reaktion namentlich in dem in Fig. 20 wiedergegebenen Fall nur schwach positiv ist.

Zusammenfassung.

Aus allen diesen Versuchen geht hervor, daß wir in der Epiphaninreaktion eine Methode besitzen, durch welche im Tierversuch der Nachweis verschiedener Antigene und Antikörper möglich ist. In den bisher ausgeführten Versuchen wurden als Antigene Tuberkulin, Diphtherietoxin, Streptokokken, Staphylokokken, Gonokokken, ferner Nieren-, Leber- und Krebseiweiß verwendet. Mit Ausnahme des Lebereiweißes konnten bei den übrigen Antigenen nach der

Immunisierung im Serum von Meerschweinchen Reaktionskörper nachgewiesen werden, welche mit den betreffenden Antigenen einen Ausschlag gaben.

Inwiefern diese Versuchsergebnisse auf das menschliche Blutserum und auf die Verhältnisse beim Menschen übertragbar sind, kann natürlich auf Grund des heute vorliegenden Materials nicht entschieden werden.

Literatur.

Weichardt, W., Über neue Methoden der Immunitätsforschung. Berl. klin. Wochenschr. Nr. 20.

Ders., Über Messung von Toxinen und Antitoxinen im Reagensglase. Chemiker-Zeitung 1908, Nr. 20.

Ders., Vortr. 2. und 4. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie, Berlin 1908 und 1910. Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref. Bd. 42, Beiheft, S. 143 und Bd. 47, S. 36.

Ders., Über Immunitätsreaktionen in mikroheterogenen Systemen. Zeitschr. f. Immunitätsforschung Bd. 6, Heft 4, S. 644.

Ders., Med. Klinik, 1909, Nr. 12. (Sitzung der phys. Ges. zu Berlin vom 19. Februar 1909.)

Ders., Eine neue serologische Methode zur Syphilisdiagnose. Deutsche med. Wochenschr. 1911, Nr. 4.

Ders. und Kümmell, R., Studien über die Organspezifität des Uveaeiweißes. Münchner med. Wochenschr. 1911, Nr. 32.

Kümmell, R., Versuche einer Serumreaktion der sympathischen Ophthalmie. Graefes Archiv f. Ophthalmologie. Bd. LXXXI, Heft 3, S. 446.

Schrön, Studien mit der Weichardtschen Epiphaninreaktion. Münchner med. Wochenschr. 1910, Nr. 38.

Ders., Zu den Bemerkungen J. Traubes: „Zur Diagnose der Syphilis“ Nr. 5 dieser Wochenschrift. Deutsche med. Wochenschr. 1911, Nr. 6, S. 260 und Nr. 12, S. 559.

Mosbacher, Experimentelle Studien mit artgleichem Synzytiotoxin und über Schwangerschaftsdiagnose mittels der Epiphaninreaktion (E. R.). Deutsche med. Wochenschr. 1911, Nr. 22.

Semibratow, W. Die Epiphaninreaktion. Serodiagnostik der lues nach Weichardt. Wojenno-medicinsk Journ. 96, S. 307. 1912.

Kammann, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 11, S. 178.

Stötter, Über den gegenwärtigen Stand der Studien mit der Epiphaninreaktion. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 11, S. 749.

Meyer, Fritz, Berl. klin. Wochenschr. 1912, Nr. 6.

Wohlers, H. E., Zeitschr. f. anorg. Chemie, Bd. 59, 1908, S. 203.

Kraus, R. und Amiradzibi, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 6, Heft 1, S. 16.

Aus der Biol. Abt. des Georg Speyer-Hauses in Frankfurt a. M.
Direktor: Exz. Wirkl. Geheimer Rat Prof. Dr. Paul Ehrlich.

Experimentelle und Chemotherapeutische Versuche bei Framboesia Tropica.

Von

Dr. med. **G. Castelli,**

Assistent am Georg Speyer-Haus in Frankfurt a. M.

Mit Tafel IV/VII.

Die Framboesia Tropica, Yaws, ist immer noch ein Gegenstand lebhafter Interessen und Diskussionen unter den Forschern.

Nicht von allen wird diese als eine ganz unabhängige Krankheit betrachtet, weil einige Autoren dieselbe als ein selbständiges nosologisches Ganze ansehen, andere halten sie nur für eine Abart der Syphilis und wieder andere denken, daß die Framboesie und die Syphilis zwei verschiedene Krankheiten sind, aber unter sich einen gewissen Verwandtschaftsgrad aufweisen. Jede Entdeckung auf dem Gebiete einer dieser Krankheitsformen hat zum eingehenderen Studium der anderen geführt: so kam die Veröffentlichung von Castellani im Jahre 1905 über das Treponema pertenue gleich nach derjenigen von Schaudinn über das Treponema pallidum; und folgten den experimentellen Versuchen von Metschnikoff und Roux, von Bertarelli, Parodi, Ossola, Hoffmann, Uhlenhuth und Mulzer hinsichtlich der Übertragbarkeit der Syphilis auf den Affen und auf Kaninchen die von Castellani, Neißer, Baermann und Halberstädter, Nichols für die Framboesie.

Neißer, Baermann und Halberstädter[28] ist es tatsächlich gelungen, die tropische Framboesie vom Menschen auf den Affen und sogar von einem Affen auf den anderen zu übertragen.

Halberstädter[17] fuhr mit diesen Versuchen fort und berichtete über einen Fall von Generalisierung des Virus bei einem Orang-Utang: vier Monate nach der Inokulation zeigte das Tier an der Brust, am Abdomen, an den Extremitäten und im Gesicht typische Papeln, die in der Folge spontan zurückgingen.

Castellani[11] erzielte positive Resultate bei 5 Makaken und 9 Halbaffen; er beobachtete an drei Tieren das Auftreten von Sekundärerscheinungen.

Levaditi und Nattan-Larrier[23] erhielten bei zwei auf den Augenbrauen infizierten Schimpansen die Bildung von Primärerscheinungen; von diesen aus infizierten sie zwei andere Tiere und bemerkten bei einem derselben nach 34 Tagen ein von Kruste bedecktes und an Spirochäten reiches Geschwür.

Auch Löhe[24], Ashburn und Craig[2], White und Tyzzen[44], Hoffmann (siehe Neißer[27]) gelang es, das Yaws von Menschen auf Affen zu übertragen.

Nichols[29] hat die Framboesia von einem Negersoldaten, der von den Philippinen zurückgekehrt war, in die rechte Augenbraue eines Macacus rhesus eingeimpft und erzielte so nach einer Inkubationszeit von 24 Tagen das Auftreten einer typischen Affektion; dann injizierte er das Reizserum direkt in die Hoden der Kaninchen und bemerkte, daß diese sich vergrößerten und sich erbsen- bis olivengroße, an Spirochäten reiche Knoten bildeten.

Einige Autoren (siehe Scheube[37]) wollen Framboesia bei anderen Tieren beobachtet haben, z. B. bei Hühnern (Calder[6]), aber hierfür fehlt jede Bestätigung, und sogar Colcott Fox[15] glaubt, daß die bei Hühnern als der menschlichen Framboesie entsprechend beschriebenen Erscheinungen nichts anderes seien als solche von Molluscum contagiosum.

Die Veränderungen, die man nach Nicholschem Verfahren im Hodenparenchym des Kaninchens erhält, sind zwar sehr reich an Spirochäten, aber für die chemotherapeutischen Versuche, bei denen man das Verhalten der Parasiten infolge der Darreichung des Mittels genau zu beobachten hat, nicht ganz geeignet, weil die Haut auf diesen Verdickungen sehr oft stark hyperämisch ist, so daß die Blutfülle das Auffinden der Spirochäten in dem Punktionssaft erschwert, und noch dazu, weil ihr Regressionsprozeß sehr schnell vor sich geht; man beobachtet oft hier, was Uhlenhuth und Mulzer[42] bei den Hodensyphilomen gesehen haben, daß die Punktion selbst ihre Rückbildung zu beschleunigen scheint. Bei einer zweiten am anderen Tage vorgenommenen Prüfung sind häufig keine Spirochäten im Saft aufzufinden, während sie 24 Stunden vorher sehr zahlreich zu bemerken waren.

Auf Grund dieser Erwägungen habe ich mir schon seit 1910 vorgenommen, zu versuchen, ob es nicht möglich wäre, mittels des

Nicholschen Stammes einen analogen Schanker am Skrotum des Kaninchens zu erhalten, wie ihn zuerst Ossola und Hoffmann mittels Inokulation des syphilitischen Materials hervorgerufen haben.

Die Resultate waren positiv, wie folgende Berichte beweisen:

Am 21. Oktober 1910 habe ich ein Kaninchen infiziert, indem ich unter die Haut des Skrotums beiderseits kleine Stückchen eines Hodens, der vorher nach Nichols infiziert war, einsetzte. Am 12. November gab es auf den beiden Hoden in der Nähe der Inokulationsstelle eine starke Infiltration. Am 22. November konnte man daselbst zwei haselnußgroße Indurationen beobachten, von welchen die linke ulzeriert und mit einer Kruste bedeckt war; am 2. Dezember erinnerten die so erhaltenen Geschwüre durch den äußeren Anschein an solche, wie sie bei syphilitischem Material auftreten; aus diesen Geschwüren ergab sich durch Punktion ein an gut beweglichen Spirochäten reicher Saft. In der rechten Inguinalgegend konnte man beim Befühlen eine Drüsenanschwellung wahrnehmen; dieselbe war hart, und von Erbsengröße. In der linken Inguinalgegend ergab sich der gleiche Befund.

Dieselben Erscheinungen kann man auch erzielen, wenn man das infizierende Material (welches von einem derartigen Geschwüre herrührt) mit einer breit abgekratzten Stelle des Skrotums in Berührung läßt.

Am 20. Dezember 1910 habe ich das Skrotum eines normalen Kaninchens in ausgedehntem Maße abgekratzt und auf dieser Stelle infizierendes Material von dem vorher erwähnten Tiere einige Stunden gelassen. Die Verletzungen heilten in kurzer Frist.

Am 5. Januar 1911 war die Haut intakt.

Am 16. Januar erschien auf dem Skrotum beiderseits eine kleine rote Erhöhung von Erbsengröße, welche sich von dem umgebenden Gewebe scharf abgrenzte und auf der linken Seite in der Mitte eine kleine Hauterosion zeigte.

Am 21. Januar waren die Schanker bei diesem Tier gleich denen des vorhergehenden. Auch in diesem Falle zeigte die Prüfung des durch Punktion erhaltenen Saftes am Paraboloid-Kondensor sehr viele gut bewegliche Spirochäten.

Die oben angeführten Protokolle werden beweisen, daß es möglich ist, die Bildung von Lokalerscheinungen am Skrotum des Kaninchens zu erzielen. Auf die Inokulation folgt eine Inkubationsperiode, deren Dauer verschieden ist. Die wiederholten häufigen Passagen in die Hoden des Kaninchens vermehren beträchtlich

die Virulenz des Stammes. In der Tat treten die Schanker, die man durch einen Stamm erhält, welcher häufige Passagen in dem Hoden hervorgerufen hat, auf und entwickeln sich schneller und nehmen bemerkenswertere Dimensionen an; auch der Prozentsatz der positiven Übertragung ist viel größer.

Die so erhaltenen Framboesieschanker am Skrotum des Kaninchens, sei es durch subkutane Inokulation, sei es mittels Einschmierung der in großem Maßstabe abgekratzten Hautoberfläche, unterscheiden sich nicht wesentlich von den entsprechenden bei experimenteller Syphilis, weder durch den äußeren Anschein, noch im Verlauf. Manchmal erreichen sie sehr große Durchmesser, zuweilen jedoch gehen sie schnell zurück. Eine feste Regel läßt sich nicht angeben: man kann nur sagen, daß fortgesetzte schnelle Passagen die Virulenz des Virus steigern, was sich durch die Abkürzung der Inkubationsperiode und den höchsten Prozentsatz der positiven Inokulation zeigt.

Infolge der subkutanen Infektion am Skrotum habe ich niemals Erscheinungen in fernstehende Organe bemerkt; nur einmal habe ich Orchitis specifica bei einem Kaninchen wahrgenommen, welches an der Haut derselben Seite infiziert war, aber in solchem Falle kann man nicht ohne weiteres von einer Generalisierung des Virus sprechen.

Durch Infektion in das Parenchym des Hodens nach dem Nicholschen Verfahren erhielt ich bei einem Albinokaninchen einen Prozeß von Keratitis und bei einem anderen, in gleicherweise behandelten Tier eine spezifische Verdickung des nicht eingespritzten Hodens*).

Diese Befunde brachten mich auf den Gedanken, zu versuchen, ob es möglich wäre, eine Generalisierung des framboetischen Virus bei Kaninchen hervorzurufen.

Ich begann deshalb mit einer Reihe von Versuchen, um festzustellen, wie sich die direkt in den Blutkreislauf eingeführte Spirochaeta pertenuis verhält.

Ich benutzte als Ausgangsmaterial die Hoden des Kaninchens, welche direkt in das Parenchym infiziert waren, weil die Verdickun-

---

*) In seiner letzten Veröffentlichung hat Nichols[31] berichtet, daß auch er die Bildung von Lokalerscheinungen an der Haut des Skrotums erzielt hat; und außerdem hat er die Diffusion des framboetischen Virus von dem infizierten auf den gesunden Hoden beobachtet; ferner hat er die interessante Wahrnehmung gemacht, daß diese Lokalisation häufiger ist nach der spontanen Regression oder der Kastrierung des injizierten Hodens.

gen dieses Organes und der einhüllenden Membrane eine sehr große Menge von Spirochäten mit nur wenigen anderen Keimen enthalten. Der unter möglichst strenger Asepsis herausgenommene Hoden wird sehr fein in Kochsalzlösung zerstückelt und dann ziemlich lange bei einer Temperatur von 37 Grad geschüttelt. Die Flüssigkeit wird durch Mull geseiht und in die Vena marginalis des Ohres ganz junger, ja sogar noch säugender Kaninchen injiziert. Die Infektion habe ich oft zwei- bis dreimal wiederholt.

Kaninchen Nr. 1 wurde nach der oben beschriebenen Technik am 7. Oktober 1911 infiziert und zum zweiten Male am 8. November und dann nochmals am 25. November. Es zeigte am 10. Dezember an der Basis der oberen Seite des rechten Ohres eine Papel von der Größe einer halben Erbse mit glatter Oberfläche und fibroelastischer Konsistenz, sie war mit der Haut auf den darunter befindlichen Geweben verschiebbar und gab durch Punktion einen an Spirochäten reichen Saft.

Kaninchen Nr. 2 wurde am 7. Oktober, am 8. November, am 25. November 1911 intravenös infiziert; es zeigte am 1. Dezember auf beiden Augenlidern, auf der Basis des hinteren Randes des linken Ohres und an den Seiten der Nase eine Reihe von papulösen Erscheinungen, rund oder ovalartig, linsen- bis erbsengroß mit glatter Oberfläche; sie erschienen als Verdickungen der Haut im ganzen unabhängig von den darunterliegenden Geweben und geben durch Punktion eine gelbliche Flüssigkeit mit sehr zahlreichen Spirochäten, sie nahmen an Größe schnell zu, später traten noch andere Erscheinungen an der Basis des rechten Ohres auf.

Am 8. Dezember zeigte das Kaninchen eine Reihe von papulösen Bildungen und zwar an der rechten Seite zwei kleine an der Basis des Ohres, ovalartig mit glatter Oberfläche, eine dritte auf dem Augenlid, rund und haselnußgroß fein granuliert, teilweise mit einer gelblichen Kruste bedeckt, noch zwei runde, eine an der Basis und die andere an den vorderen Extremitäten der Schnauze. An der linken Seite beobachtete man Papeln in der gleichen Reihenfolge: zwei an der Basis des Ohres, größer als auf der rechten Seite, eine haselnußgroße auf den Augenlidern und noch eine auf der Basis der Nase (siehe Tafel IV, Figur 1).

Kaninchen Nr. 3 wurde nach der oben beschriebenen Technik am 8. November und am 21. Dezember 1911 infiziert. Am 28. Dezember zeigte das Tier auf der Haut gegen die Mitte des linken Randes am Nasenbein eine Papel von der Größe einer Linse mit glatter

Oberfläche, welche auf dem darunterliegenden Gewebe verschiebbar war. Bei der Punktion ergaben sich kleine Mengen eines gelblichen Saftes mit sehr zahlreichen, gut beweglichen Spirochäten.

Am 16. Januar bemerkte man an der Basis des hinteren äußeren Randes des linken Ohres eine Papel von der Größe einer Haselnuß. Die Nase war stark angeschwollen und gerötet. Am linken Rande des Nasenbeines beobachtete man eine Induration in der Größe eines Zweimarkstückes mit verdichteten Rändern und mit einer ausgebreiteten Ulzeration in der Mitte, voneiner gelblichen Kruste bedeckt (siehe Tafel V, Figur 2). Auf der rechten Hälfte der Oberlippe konnte man zwei analoge Erscheinungen wahrnehmen: die eine, haselnußgroß, ulzeriert, mit einer gelblichen Kruste, die andere, mit einer leichten Depression in der Mitte, gegen die Medianlinie, diese letztere war von der Größe einer Erbse. Das Tier zeigte außerdem an der Schwanzspitze eine oliväre Anschwellung mit ulzerierter Oberfläche und von fibröser Konsistenz und an der Innenseite der rechten Hinterpfote oben auf dem Fersenbein eine runde Induration in Haselnußgröße mit intakter Haut; unmittelbar oberhalb, unterschieden von dieser, noch eine andere in ovaler Form und in den Durchmessern von $1,5 \times 0,8$ cm mit ulzerierter Oberfläche und verdichteten Rändern (siehe Tafel VI, Figur 4); zwei analoge Bildungen traten am linken Fuß auf: die eine mit den Dimensionen einer Linse, an der Basis der kleinen Zehe, die andere von Erbsengröße unmittelbar vor der vorhergehenden. Alle angeführten Erscheinungen zeigten sich als Hautverdichtungen, unabhängig von dem unteren Gewebe; von allen erhielt man durch Punktion einen an Spirochäten sehr reichen Saft.

Kaninchen Nr. 4.

7. II. 1912 erste intravenöse Infektion.

5. III. 1912 zweite Infektion.

20. III. 1912: auf dem Nasenbein bemerkt man eine erbsengroße Papel mit einer nach der Mitte hin leicht abgescheuerten Oberfläche; sie liegt etwas links von der Medianlinie, hebt sich scharf von dem umgebenden Gewebe ab und ist auf dem darunterbefindlichen Knochen verschiebbar. Auf der rechten Seite der Schnauze gewahrt man drei Papeln von geringeren Dimensionen; die größte befindet sich gegen die Mitte des rechten Randes des Nasenbeins; beide anderen sind vor der ersten. Der Schwanz ist außerdem an seinen zwei proximalen Dritteln vergrößert; durch Punktion jeder dieser Erscheinungen erhält man zahlreiche, gut bewegliche Spirochäten.

31. III. 1912. Der allgemeine Zustand des Kaninchens hat sich sehr verschlechtert. Es wird getötet und man geht zur histologischen Prüfung über.

Kaninchen Nr. 5.

7. II. 1912 intravenöse Infektion.

28. III. 1912: der Schwanz ist etwas geschwulstig in seiner proximalen Mitte (siehe Tafel VI, Fig. 3); durch Punktion ergeben sich sehr zahlreiche Spirochäten.

6. IV. 1912. Die Schwellung am Schwanz hat zugenommen: an ihrem distalen Rand bemerkt man eine Erosion von 0,5 × 0,4 cm. Am Kopf beobachtet man charakteristische Papeln, links an der Ohrwurzel eine solche von der Dimension eines Markstückes, und eine andere kleinere, welche unterhalb gelegen ist; rechts noch an der Ohrwurzel vier analoge Verdickungen der Haut, eine bohnengroße an der Vereinigung des vorderen und hinteren Randes des Ohres, zwei etwas unterhalb der vorigen und nach außen, jede von der Größe einer Haselnuß und die vierte auf der dorsalen Oberfläche des Ohres gegen die Medianlinie. Oberhalb des Nasenbeines gewahrt man deutlich das Vorhandensein einer Schwellung von Haselnußgröße mit fibroelastischer Konsistenz, und auf dieser ist die Haut leicht verschiebbar.

Kaninchen Nr. 6.

5. III. 1912 erste intravenöse Infektion.

17. IV. 1912 zweite Infektion.

25. IV. 1912: auf der proximalen Hälfte des Schwanzes eine haselnußgroße Induration mit sehr zahlreichen Spirochäten.

1. V. 1912: die Induration am Schwanz hat die Größe einer Mandel erreicht. Auf dem Nasenbein beobachtet man eine kirschengroße Induration mit sehr zahlreichen Spirochäten.

Kaninchen Nr. 7.

21. XII. 1911 erste intravenöse Infektion.

7. II. 1912 zweite Infektion.

25. III. 1912: der linke Hoden zeigt sich vergrößert und von vermehrter Konsistenz. Die einhüllenden Membrane sind infiltriert. Am Dunkelfeld sehr zahlreiche Spirochäten.

15. V. 1912: linker Hoden noch sehr groß und hart. Haut infiltriert.

18. V. 1912: Hoden operiert zum Weiterimpfen.

Kaninchen Nr. 8.

21. XII. 1911 erste intravenöse Infektion.

5. III. 1912 zweite Infektion.

25. III. 1912 dritte Infektion.

25. IV. 1912: an der rechten Seite der Schnauze gegen die Mitte des Nasenbeines eine erbsengroße Papel.

Kaninchen Nr. 9.

16. X. 1911 erste intravenöse Infektion.

8. XI. 1911 zweite intravenöse Infektion.

25. XI. 1911 dritte intravenöse Infektion.

21. XII. 1911 vierte intravenöse Infektion.

Am 27. Januar 1912 ist die Haut der Nase stark infiltriert und beim Berühren schmerzhaft. Die Hornhaut des rechten Auges erscheint im oberen Drittel trüb und reich an Blutgefäßen.

Am 7. Februar 1912 fünfte Infektion.

Am 7. März 1912 ist der Allgemeinzustand sehr schlecht. Die Nase ist mit einer infiltrierten Haut bedeckt und beim Berühren schmerzhaft. Die rechte Hornhaut ist trüb in ihrer ganzen Ausdehnung und sehr stark hyperämisch; beim Abkratzen mit einem Messer erhält man hiervon einen an Spirochäten sehr reichen Saft.

Kaninchen Nr. 10.

5. III. 1912 erste intravenöse Infektion.

17. IV. 1912 zweite Infektion.

6. V. 1912: Verdickung auf dem Nasenbein. Infiltration des Schwanzes. Am linken Rand der Analöffnung kleine Papel, deren Durchmesser von $0,5 \times 0,7$ cm sind, mit stark infiltrierten Rändern.

9. V. 1912: Die Verdickung an der Nase ist sehr voluminös geworden und hat die Größe einer kleinen Walnuß erreicht. Auch die Papel am After hat zugenommen.

Kaninchen Nr. 11.

5. III. 1912 erste intravenöse Infektion.

17. IV. 1912 zweite Infektion.

6. V. 1912: Verdickung an der Nase und kirschengroße Induration am Schwanz.

20. VI. 1912: Auf dem Nasenbein bemerkt man links eine kleine Papel von $1,5 \times 1,5$ cm, welche von einer Kruste bedeckt ist. Auf der rechten Hälfte beobachtet man noch eine mit den Durchmessern von $1,2 \times 1,2$ cm, mit der vorigen in der Medianlinie zusammentreffend. Die rechte Hälfte der Oberlippe ist mit einem großen Horn besetzt mit sehr dicker Kruste; es dehnt

sich 2 cm weit in transversaler Richtung aus, erhebt sich 1 cm über das darunter befindliche Gewebe und ist mit der Haut verschiebbar. Am vorderen Rande der rechten Ohrwurzel bemerkt man eine rundliche Anschwellung mit den Durchmessern von 1,7 × 1,5 × 1,2 cm, gegen die Mitte leicht abgescheuert und in jeder Richtung verschiebbar. An der Schwanzspitze gewahrt man noch eine bohnenähnliche Vergrößerung.

Kaninchen Nr. 12.

25. III. 1912 erste intravenöse Infektion.

17. IV. 1912 zweite Infektion.

6. V. 1912: Verdickung an der Nase. Kirschengroße Induration am Schwanz.

18. V. 1912. Die Verdickung an den tiefliegenden Geweben der Nase hat zugenommen, außerdem bemerkt man auf der Schnauze Infiltration der Haut. An dem rechten Augenlid beobachtet man eine linsengroße Papel.

Kaninchen Nr. 13.

25. III. 1912 erste intravenöse Infektion.

26. III. 1912 zweite Infektion.

6. V. 1912: tiefe Infiltration an der Nase, Verdickung in der Mitte des Schwanzes.

16. V. 1912: Die Vergrößerung am Schwanz hat die Dimension einer Mandel erreicht; auch die Infiltration an der Nase hat zugenommen (siehe Tafel VII, Figg. 2—6). An der rechten Seite bemerkt man noch auf der Nase drei erbsengroße kutane Papeln.

Kaninchen Nr. 14.

26. IV. 1912 intravenöse Infektion.

6. VI. 1912: An der rechten Ohrwurzel eine oberflächliche Papel von 1,2 × 1,2 cm; in den tiefliegenden Nasengeweben eine erbsengroße Verdickung; und auf der Mitte des Schwanzes eine Anschwellung von gleicher Größe.

Kaninchen Nr. 15.

26. IV. 1912 intravenöse Infektion.

18. VI. 1912: An der Basis des hinteren Randes des linken Ohres gewahrt man eine kutane Papel von 1,8 × 1,5 cm, und noch eine kleine an der Basis des vorderen Randes des rechten Ohres. Auf dem Nasenbein bemerkt man eine haselnußförmige Vergrößerung und an der Mitte des Schwanzes eine solche von Bohnengröße.

Kaninchen Nr. 16.

26. IV. 1912 intravenöse Infektion.

18. VI. 1912: An der Basis des hinteren Randes des linken Ohres eine erbsen- und am rechten Ohre eine linsengroße kutane Papel. Auf der Nase bemerkt man oberflächlich zwei kleine analoge Erscheinungen, von denen die eine rechts, die andere links von der Medianlinie sich befindet; die Unterlage ist bedeutend geschwollen. Auf der Schwanzspitze eine kleine Vergrößerung.

Kaninchen Nr. 17.

18. IV. 1912 intravenöse Infektion.

18. VI. 1912: Auf dem Nasenbein in der linken Hälfte bemerkt man eine kutane Papel mit den Durchmessern von 2 × 1,5 × 0,7 cm; auf der linken Hälfte der Unterlippe sieht man eine erbsengroße Induration; auf der Basis des hinteren Randes des rechten Ohres gewahrt man zwei Indurationen, die eine erbsengroß, die andere linsengroß auf der Basis des vorderen äußeren Randes.

Kaninchen Nr. 18.

14. IV. 1912 erste intravenöse Infektion.

26. IV. 1912 zweite Infektion.

18. V. 1912 dritte Infektion.

18. VI. 1912: Verdickung am Schwanz.

18. VII. 1912: Die Verdickung am Schwanz hat zugenommen. Man bemerkt außerdem eine Papel um die Ausmündung der Urethra und noch eine kleine mäßige Infiltration der tiefliegenden Gewebe der Nase.

8. VIII. 1912. Induration am Schwanze. Papeln am rechten und linken Ohr. Die Infiltration an der Vulva hat fast die Größe eines Zweimarkstückes erreicht (siehe Tafel VI, Fig. 2). Außerdem bemerkt man noch, daß die Schnauze infiltriert, trocken und mit dicker Kruste bedeckt ist.

14. VIII. 1912: Die Papel am rechten Ohre mißt 1,4 × 2 × 1 cm, die am linken Ohre 1,8 × 2,3 × 1,2, die Verdickung um die Ausmündung der Urethra 2,3 × 2 × 4,2 cm. Auf dem Nasenbein, in seinem distalen Drittel, beobachtet man eine Papel von 1,8 × 1,4 × 1 cm.

Kaninchen Nr. 19.

5. III. 1912 erste intravenöse Infektion.

17. III. 1912 zweite Infektion.

16. VI. 1912: An der Basis des rechten Ohres bemerkt man

ein steil gerändertes Geschwür mit dem Durchmesser von 2 × 1,5 cm, am proximalen Drittel des Schwanzes eine typische Vergrößerung, auf dem Nasenbein in der rechten Hälfte eine kleine Hautpapel.

14. VIII. 1912: Das Geschwür an der Basis des rechten Ohres hat zugenommen; es mißt 2 × 2,3 cm; die Infiltration am Schwanz ist größer geworden und hat sich ulzeriert; außerdem bemerkt man auf der vorderen Pfote eine Papel mit den Durchmessern von 1,7 × 2,6 × 1 cm, ulzeriert, von einer dicken Kruste bedeckt (siehe Tafel VI, Fig. 1).

Aus den oben erwähnten Protokollen ergibt sich, daß die intravenöse Injektion des Virus der Framboesia tropica beim Kaninchen nach einer Inkubationsperiode von verschiedener Dauer die Bildung bestimmter Erscheinungen in Teilen hervorruft, die von der Injektionsstelle entfernt liegen.

Die Injektion des infizierenden Materials kann verschiedene Male wiederholt werden, aber häufig genügt eine einzige, um den Ausbruch der Krankheit hervorzurufen. Der Allgemeinzustand scheint in unregelmäßiger Weise beeinflußt. Oft bemerkt man, daß zwischen den gleichzeitig und gleichmäßig infizierten Tieren derselben Brut einige den Dimensionen und dem Gewicht nach geringer erscheinen, und bei diesen beobachtet man die typischen Symptome. Manchmal aber wachsen die Kaninchen ziemlich regelmäßig, trotz des Vorhandenseins von kutanen Papeln. Alle jedoch leiden sekundär besonders infolge der Entwicklung der gummiähnlichen Geschwülste in den tiefliegenden Nasengeweben. Der Allgemeinzustand verschlechtert sich tatsächlich sehr schnell, wenn die letzteren auftreten; es entsteht eine reichliche nasale Sekretion, die Freßlust nimmt ab; sogleich machen sich Atembeschwerden bemerkbar, und wenn die Tiere sich selbst überlassen werden, sterben sie an Atemnot.

In einigen Fällen fand ich den Hoden und in anderen die Hornhaut erkrankt. Manchmal erscheint das Testiculum vergrößert und seine Konsistenz merklich erhöht; der anfänglich auf das Parenchym beschränkte Prozeß zieht in der Folge auch die einhüllenden Membrane in Mitleidenschaft, so daß sich diffuse und zirkumskripte Periorchitiden bilden; die Haut wird infiltriert und man erhält die Bildung eines Schankers.

Bis jetzt habe ich nur wenige Fälle von Keratitis beobachtet. Sie traten bis zu drei Monaten nach der ersten Injektion auf; die Hornhaut zeigte sich in ihrer ganzen Ausdehnung stark getrübt und reichlich hyperämisch; beim Abkratzen ihrer Oberfläche mit einem

Messer erhielt man einen Saft, der am Paraboloid zahlreiche Spirochäten aufwies.

In den inneren Organen der zur Autopsie gelangenden Tiere habe ich niemals makroskopische Veränderungen bemerkt.

Die Framboesie bei Kaninchen zeigt sich also wesentlich unter der Form einer Hautkrankheit, deren Symptome morphologisch zwei verschiedene Typen annehmen: Hautpapeln und Granulationsknötchen.

Die ersteren sind besonders am Kopfe bemerkbar (auf den Seiten der Nase, auf den Augenlidern, an der Ohrmuschel, an den Lippen); seltener finden sie sich an den Gliedmaßen und an den Afterrändern; sie treten als kleine Ausschläge auf, manchmal vereinzelt, manchmal in der Anzahl von zwei oder mehr; sie erscheinen zuerst als Hautverdichtungen, rund oder leicht oval, und nehmen rasch an Dimension zu; nicht selten erreichen sie die Größe eines Zweimarkstückes mit verdichteten Rändern; ihre Oberfläche ist anfangs glatt und intakt, dann scheuert sie sich in der Mitte ab und überzieht sich mit einer gelblichen dicken Kruste. Wenn man diese abhebt, hat man den typischen Anblick einer Himbeere, der durch die Anwesenheit der erweiterten Papillen der Cutis bestimmt wird. Die Papeln zeigen sich unabhängig von dem darunter befindlichen Gewebe; sie sind tatsächlich nach allen Richtungen mit der Haut verschiebbar. Bei der Punktion erhält man einen spärlichen gelblichen Saft, und am Dunkelfeld-Kondensor bemerkt man darin zahlreiche lebhaft bewegliche Spirochäten.

Bei der histologischen Prüfung dieser papulösen Erscheinungen zeigt sich das typische Bild eines Papilloms (siehe Taf. VII, Fig. 1). An der Oberfläche sieht man eine starke Hyperkeratose mit mehrfacher Hornschicht; zwischen den Lamellen derselben liegen oft kleine Herde von Leukocyten. Das Epithel ist stark gewuchert und die Papillen haben sich enorm ausgebreitet; letztere sind, meistens an der Peripherie der Papel, sehr stark infiltriert; nach der Mitte dagegen ist das Gewebe fast netzartig und gelockert mit Infiltrationsherden, die sich hauptsächlich in den oberen Schichten befinden. Die celluläre Infiltration der Haut beruht fast ausschließlich auf typischen Plasmazellen; diese vertiefen sich gegen das Derma und finden sich besonders häufig rings um die Gefäße, wo sie manchmal wirklich mantelförmig erscheinen; in der Tiefe verteilen sie sich derart, daß sie sozusagen die obere hypertrophische Hautschicht von dem darunter liegenden Derma trennen. Ich habe bei diesen

Hautpapeln niemals Riesenzellen beobachten können. Die Gefäße sind nicht stark verändert, sondern nur etwas verbreitert; es macht sich an den Follikeln der Haare, an den Schweiß- und Talgdrüsen keine besondere Veränderung bemerkbar.

Besonders auffallend ist die Ähnlichkeit hinsichtlich der histologischen Betrachtung zwischen diesen Erscheinungen beim Kaninchen und denjenigen der menschlichen Framboesie (Numa Rost*), Henggeler[18], Unna[48], Plehn[33, 34], Schüffner[38], Siebert[39]). Im einen wie im anderen Fall haben wir als Endergebnis eine mit starker Epithelwucherung und Hyperkeratose komplizierte Plasmombildung der Cutis (Unna).

Außer den bisher beschriebenen kutanen Papeln bemerkt man noch Veränderungen bestimmter Gewebe, die zur Neubildung gummiähnlicher Geschwülste führen. Öfter treten diese Erscheinungen an der Nase und am Schwanz, seltener an den Gliedmaßen auf.

Man beobachtet zuerst im dritten Distale des oberen Teiles der Schnauze einen Höcker, meistens in der Medianlinie, der beim Berühren sich als eine Vergrößerung des subkutanen Gewebes erweist; er ist von fibroelastischer Konsistenz und mit der Unterlage unverschieblich verbunden. Die Haut ist zuerst normal und in kleinen Falten aufhebbar. Der Höcker nimmt rasch an Umfang zu, manchmal wird dann die Haut beteiligt, welche sich ulzeriert, aber meistens bleibt die Anschwellung von der Haut unabhängig. Bei einem Schnitt in der Richtung der Medianlinie (siehe Taf. VII, Figg. 2—6) unterscheidet man deutlich auf dem Nasenbein ein neugebildetes, dichtes Granulationsgewebe, auf dessen Oberfläche die Haut unverändert erscheint. Bei der histologischen Untersuchung zeigt sich dieses Infiltrationsgewebe ziemlich verschieden von jenem der Papillome der Cutis. Daraus ergibt sich also vor allem das Vorhandensein reicher neugebildeter Kapillaren, das häufige Auftreten der Gefäßveränderungen mit Infiltrationen der äußeren Häutchen und mit starken Proliferationen der Intima. Oft bemerkt man auch zahlreiche mehrkernige Riesenzellen, die als große Protoplasmamasse von verschiedener Form, meistens rundlich, hervortreten; die Kerne finden sich im Innern und zwar nicht in einförmiger Weise: manchmal sind sie in der Mitte angehäuft, manchmal verteilen sie sich kranzförmig an der Peripherie der Zelle, oder gruppieren sich an den beiden Polen derselben. Außerdem beobachtet man noch in diesem Gewebe

*) Journal of trop. Medicine VIII, 1. Sept. 1905.

Lymphocyten, epitheloide Zellen und Plasmazellen, meistens um die Gefäße herum. Dieses histologische Bild zeigt sich wenigstens in der Hauptsache sowohl bei den Infiltrationen an der Schnauze als auch bei denjenigen am Schwanz.

Im folgenden gebe ich die Protokolle einiger Versuche bekannt, welche ich angestellt habe zur Feststellung der Wirkung des Salvarsans und Neosalvarsans bei Kaninchen, die an Framboesie erkrankt waren.

Zuerst habe ich mir vorgenommen, die Wirkung des Dioxydiamidoarsenobenzols bei den lokalen Erscheinungen von Framboesie festzustellen. Man begreift, daß die so erhaltenen Daten mit den von Nichols bei der Behandlung der an Orchitisprozessen erkrankten Kaninchen gefundenen sich nicht vergleichen lassen. Ich berichte daher die Geschichte eines mit Salvarsan in der Dosis von 0,012 g pro Kilo Gewicht behandelten Tieres und von drei anderen, die an analogen Erscheinungen erkrankt waren und Neosalvarsan in den Dosen von 0,035, 0,02 und 0,015 g pro Kilo Gewicht erhielten.

Kaninchen Nr. 20.

7. II. 1912. Infiziert subkutan auf beiden Hoden.

3. III. 1912. Beiderseits erbsengroße Induration mit punktförmiger Hauterosion.

11. III. 1912. Beiderseits kleiner Schanker.

19. III. 1912. Die Schanker haben zugenommen; Durchmesser des rechten Schankers: 1,6 × 1,4 × 0,7, des linken Schankers 1 × 1 × 0,8 cm.

25. III. 1912. Rechts Schanker 1,3 × 1,3 × 0,9, links Schanker 1,6 × 1,4 × 1.

1. IV. 1912. Rechts Schanker 1,8 × 1,4 × 1, links Schanker 1,9 × 2 × 1,2.

9. IV. 1912. Rechts Schanker 1,6 × 2,2 × 1,1, links Schanker 2 × 2,4 × 1,4.

15. IV. 1912. Rechts Schanker 2 × 2,8 × 1,4, links Schanker 2,4 × 2,7 × 1,4. — Gewicht des Kaninchens 1450 g; an Probepunktion sehr zahlreiche Spirochäten; das Tier erhält intravenös 17,4 ccm einer Verdünnung $^1/_{1000}$ aus Salvarsan = 0,012 g pro Kilo.

16. IV. 1912. Beiderseits Spirochäten, meistens unbewegliche wenige langsam beweglich.

17. IV. 1912. Wie oben: doch sind die Spirochäten von geringer Zahl. Schanker kleiner; Durchmesser rechts: 2 × 2,4 × 1,3, links 1,8 × 2,1 × 1,2.

18. IV. 1912. Wenige unbewegliche Spirochäten.

19. IV. 1912. Keine Spirochäten mehr.

20. IV. 1912. Keine Spirochäten; Schanker rechts 1,7 × 2,3 × 0,9; links 1,7 × 2,1 × 0,9.

22. IV. 1912. Tier stirbt.

Kaninchen Nr. 21.

22. II. 1912. Infiziert subkutan auf beiden Hoden.

11. III. 1912. Rechts Schanker 1 × 1 × 0,6 cm, links Schanker 1,2 × 1,4 × 0,7 cm.

19. III. 1912. Rechts Schanker 1,8 × 1,8 × 1,2, links Schanker 1,9 × 1,9 × 1,5.

25. III. 1912. Rechts Schanker 2,2 × 2,4 × 1,5, links Schanker 2 × 2,5 × 1,8.

26. III. 1912. Rechts Schanker 2,2 × 2,5 × 1,5, links Schanker 2,1 × 2,5 × 1,9. — Probepunktion: sehr viele Spirochäten beiderseits; Gewicht des Kaninchens 2030 g; das Tier erhält intravenös 14,21 ccm einer Verdünnung $^{1}/_{200}$ aus Neosalvarsan = 0,035 g pro Kilogramm.

27. III. 1912. Wenige unbewegliche Spirochäten.

28. III. 1912. Wenige, degenerierte Spirochäten. Durchmesser des Schankers: rechts 1,9 × 2,1 × 1,3, links 1,9 × 2,1 × 1,5.

29. III. 1912. Keine Spirochäten mehr zu finden.

30. III. 1912. Keine Spirochäten; Durchmesser der Schanker: rechts 1,7 × 1,8 × 1, links 1,8 × 1,9 × 1.

1. IV. 1912. Keine Spirochäten.

4. IV. 1912. Rechts Induration 1,7 × 1,7 × 0,7 mit trockener dicker Kruste; links Induration 1,7 × 1,8 × 0,7.

9. IV. 1912. Rechts Hauterosion 0,6 × 0,7, links Hauterosion 1 × 1,2 cm; beiderseits oberflächliche Kruste und schwache Randinfiltration.

15. IV. 1912. Beiderseits Hauterosion 0,6 × 0,6 mit schwacher Infiltration.

20. IV. 1912. Beiderseits stecknadelkopfgroße Hauterosion.

25. IV. 1912. Glatt.

Kaninchen Nr. 22.

7. II. 1912. Infiziert subkutan auf beiden Hoden.

3. III. 1912. Beiderseits erbsengroße Induration.

11. III. 1912. Rechts typischer Schanker 1,2 × 1,5 × 0,7, links 1,1 × 1,2 × 0,7.

19. III. 1912. Rechts Schanker 1,7 × 2 × 1,2, links Schanker 1,5 × 1,7 × 1.

25. III. 1912. Rechts Schanker 2 × 2,5 × 1,3, links Schanker 1,8 × 2 × 1,3.

26. III. 1912. Rechts Schanker 2,2 × 2,5 × 1,3, links Schanker 1,8 × 2 × 1,3. — An Probepunktion sehr viele Spirochäten beiderseits. Gewicht des Kaninchens 1790 g; das Tier erhält intravenös 7,16 ccm einer Verdünnung $^1/_{200}$ aus Neosalvarsan = 0,02 g pro Kilogramm.

27. III. 1912. Beiderseits wenige Spirochäten, fast alle unbeweglich, nur einzelne langsam beweglich.

28. III. 1912. Unbewegliche Spirochäten (wenige) beiderseits. Schanker kleiner; Durchmesser: rechts 1,8 × 2,2 × 1,1, links 1,6 × 1,8 × 1,1.

29. III. 1912. Beiderseits unbewegliche, degenerierte Spirochäten. Durchmesser der Schanker: rechts 1,6 × 2 × 1,1 cm, links 1,5 × 1,7 × 0,9.

30. III. 1912. Keine Spirochäten mehr zu finden.

1. IV. 1912. Keine Spirochäten, rechts Induration 1,5 × 2 × 0,9 cm, links Induration 1,5 × 1,6 × 0,8 cm.

4. IV. 1912. Beiderseits Induration mit trockener, dicker Kruste, rechts 1,5 × 1,5 × 0,8, links 1,4 × 1,5 × 0,7.

9. IV. 1912. Noch trockene dicke Kruste vorhanden beiderseits.

15. IV. 1912. Links Kruste abgefallen, rechts Kruste noch vorhanden.

20. IV. 1912. Links stecknadelkopfgroße Hauterosion, rechts kleine Hauterosion mit Kruste.

29. IV. 1912. Beiderseits glatt.

Kaninchen Nr. 23.

7. II. 1912. Infiziert subkutan auf beiden Hoden.

2. III. 1912. Beiderseits erbsengroße Induration.

19. III. 1912. Rechts Schanker 1,8 × 2,4 × 1,1 cm, links 1,5 × 3,3 × 1,8.

25. III. 1912. Rechts Schanker 1,9 × 2,6 × 1,3 cm, links 1,5 × 2,2 × 1,2.

26. III. 1912. Rechts Schanker 2 × 2,8 × 1,3 cm, links 1,5 × 2 × 1,3. — Beiderseits sehr viele, gutbewegliche Spirochäten. Gewicht des Kaninchens 1780 g; das Tier erhält intravenös 5,34 ccm einer Verdünnung $^1/_{200}$ aus Neosalvarsan = 0,015 g pro Kilo.

27. III. 1912. Unbewegliche Spirochäten beiderseits.

28. III. 1912. Wenige, unbewegliche Spirochäten beiderseits. Schanker kleiner; Durchmesser des rechten Schankers 1,6 × 2,1 × 1,1, Durchmesser des linken Schankers 1,3 × 1,8 × 1,1 cm.

29. III. 1912. Noch unbewegliche Spirochäten.

30. III. 1912. Einzelne degenerierte Formen. Rechts Induration 1,3 × 1,5 × 0,9 mit abgefallener Kruste, links Induration 1,2 × 1,5 × 1 mit trockener Kruste.

1. IV. 1912. Rechts Hauterosion 1,2 × 1,2 mit mäßiger Hautinfiltration; links Kruste abgefallen, Hauterosion 0,7 × 1; keine Spirochäten.

9. IV. 1912. Rechts Hauterosion 0,5 × 0,5 mit schwacher Randinfiltration: links Hauterosion 0,4 × 0,4.

19. IV. 1912. Beiderseits glatt.

Ich stelle die Protokolle der einzelnen Versuche in der Tabelle zusammen; hier gebe ich in Zentimeter die Durchmesser der Erscheinungen an, und bezeichne als Schankervolumen das Produkt der drei Durchmesser.

Die obenerwähnten Versuche, welche den Zweck hatten, die Heilwirkung des Neosalvarsans bei Erscheinungen von Framboesie am Scrotum des Kaninchens darzutun, zeigen also, daß bei einer Dosis von 0,035 g pro Kilo das Neosalvarsan zur vollständigen Sterilisierung des Schankers in drei Tagen von der Injektion an führt: bei einer Dosis von 0,02 g pro Kilo tritt die vollständige Sterilisation in 4 Tagen nach der Injektion auf, und bei einer Dosis von 0,015 g pro Kilo verschwinden die Spirochäten am 5. Tage.

Wenn wir nun betrachten, daß 0,02 g Neosalvarsan 0,012 g Dioxydiamidoarsenobenzol enthalten, und die beim Kaninchen Nr. 22 erzielten Resultate mit denen des Kaninchens Nr. 20, welchem dieselbe Dosis Dioxydiamidoarsenobenzol als Salvarsan in alkalischer Lösung dargereicht worden war, vergleichen, sehen wir einen wenn auch nur geringen Unterschied zugunsten des Neosalvarsans, weil man bei dem letzteren Tiere noch bewegliche Spirochäten 24 Stunden später bemerken konnte als bei dem anderen. Bei Framboesie des Kaninchens scheint also das Neosalvarsan trotz der geringeren Toxizität von einer nicht geringeren

Wirkung des Neosalvarsans auf den Framboesiaschanker am Scrotum des Kaninchens.

Kaninch. Nr.	Schankergröße	Schanker-volumen	Dosis pro Kilo (in gr.)	nach 24 Std. Spirochäten	nach 48 Stunden		am 3. Tage		am 4. Tage		Spiroch. am 5. Tage	
					Spir.-Bef.	Schanker-vol.	Spir.-Bef.	Schanker-vol.	Spiro-chäten	Schan-kervol.		
21	R. 2,5 × 2,2 × 1,5	8,25	0,035	s. w., unbew.	s. w., degen. Form	5,19	—	—	—	3,06	—	am 24. Tage glatt
	L. 2,5 × 2,1 × 1,9	9,97		„	„	5,98	—	—	—	3,42	—	
22	R. 2,5 × 2,2 × 1,3	7,15	0,02	einzelne langsam beweg.	unbew. Sp.	3,96	unbew. deg.	3,52	—		—	am 34. Tage glatt
	L. 2 × 1,8 × 1,3	4,68		„	„	2,88	„	2,29	—		—	
23	R. 2,8 × 2 × 1,3	7,28	0,015	unbewegl. Sp.	unbew. Sp.	3,7	unbew.	—	einzelne degen.	1,75	—	am 25. Tage glatt
	L. 2 × 1,5 × 1,3	3,9		„	„	2,57	—	—	„	1,8	—	

Wirkung zu sein als das Salvarsan.

In einer andern Reihe von Versuchen habe ich mir vorgenommen, die sterilisierende Dosis des Dioxydiamidoarsenobenzols unter der Form von Neo- bzw. Salvarsan bei den an Framboesie **allgemein** erkrankten Kaninchen festzusetzen.

Die Infektion dieser Tiere erfolgte immer in der oben beschriebenen Weise mittels Injektion einer Aufschwemmung von **Treponema pertenue** in Kochsalzlösung in die Randader des Ohres.

Das Mittel wurde ausschließlich auf intravenösem Wege in die Randader des Ohres dargereicht, und zwar Salvarsan unter der Form einer leicht alkalischen Lösung, Neosalvarsan direkt in Wasser gelöst. Besondere Sorgfalt wurde darauf verwendet, daß das Wasser frisch vor dem Gebrauch destilliert und sterilisiert wurde.

Kaninchen Nr. 24.

Am 8. und 25. November 1911 infiziert. Am 23. Januar 1912 bemerkte man auf dem rechten Augenlid eine Papel von Linsengröße, mit einer Kruste bedeckt; und auf dem Nasenbein einen Höcker, der aus einer Verdickung von fibroelastischer Konsistenz herrührte, in den Dimensionen einer Erbse, auf der Unterlage nicht verschieb-

bar; die Haut war intakt, und man konnte sie in kleine Falten legen. Außerdem zeigte das Kaninchen noch an der Basis des rechten Ohres eine ovale, mit einer Kruste bedeckte Papel (siehe Tafel V, Figur 1) mit Durchmessern von 1,3 × 2,3 cm, 1,2 cm hoch auf dem Niveau der Haut; an der Basis des linken Ohres eine analoge Erscheinung ist von einer Kruste bedeckt und maß 1,5 × 1,8 × 1 cm; am rechten Auge Keratitis; um die Afteröffnung ein Hautgeschwür mit stark infiltrierten Rändern; der Schwanz war in seiner ganzen Länge vergrößert, leicht angeschwollen, in der oberen Mitte ulzeriert mit einer dicken Kruste. Die Prüfung am Paraboloid zeigte in dem durch Punktion von jeder dieser Erscheinung erhaltenen Saft sehr zahlreiche Spirochäten.

24. I. 1912. Gewicht des Tieres 700 Gramm; das Kaninchen erhält intravenös 5,25 ccm einer Verdünnung von $^1/_{500}$ aus Salvarsan = 0,015 Gramm pro Kilo.

Vorm. 10 Uhr 45: Injektion.

11 Uhr 20: Spirochäten unverändert in Zahl und Beweglichkeit.

11 Uhr 45: sehr zahlreiche gut bewegliche Spirochäten.

12 Uhr 15: wie oben.

1 Uhr 50: wie oben.

3 Uhr 45: wie oben, einzelne langsam bewegliche Spirochäten.

4 Uhr 45: wie oben, einige unbewegliche.

7 Uhr 45: wie oben, einige unbewegliche.

25. I. 1912: vorm. 9 Uhr 30: unbewegliche Spirochäten (2 bis 5 in jedem Gesichtsfeld), einige agglutinierte und einige noch langsam bewegliche; am Schwanz wenige unbewegliche und ziemlich viele lebhaft bewegliche.

Um 11 Uhr: Befund wie oben.

Vorm. 12 Uhr: Gewicht des Tieres 770 Gramm; das Kaninchen erhält intravenös 5,77 ccm einer Verdünnung von $^1/_{500}$ aus Salvarsan = 0,015 Gramm pro Kilo.

Nachm. 2 Uhr: keine Spirochäten am Schanker des Ohres, einige lebhaft bewegliche am Schwanz.

3 Uhr 30: wie oben.

5 Uhr: keine Spirochäten am Ohr, wenige lebhaft bewegliche und einige unbewegliche am Schwanz.

7 Uhr: keine Spirochäten am Ohr; am Schwanz einzelne lebhaft bewegliche, einige langsam bewegliche, und wenige unbewegliche Spirochäten.

8 Uhr: wie oben.

• 26. I. 1912: 10 Uhr vorm.: am Schwanz noch einzelne ziemlich lebhaft bewegliche Spirochäten.

12 Uhr: am Ohr sehr wenige, kurze, zerrissene, unbewegliche Spirochäten; am Schwanz keine Spirochäten mehr.

Um 4 Uhr: wie oben; am Ohr keine Spirochäten.

Um 7 Uhr: Spirochäten weder am Ohr noch am Schwanz vorhanden.

27. I. 1912: keine Spirochäten. Induration auf dem Ohre kleiner.

5. II. 1912: am rechten Ohr ganz kleine Kruste; am linken Ohr kleine Kruste. Augenlider und Nase glatt.

7. II. 1912: Linkes Ohr und Nase glatt; rechts noch kleine Kruste von $0{,}5 \times 0{,}4$ cm.

15. II. 1912: das Kaninchen ist vollständig geheilt; nur an der Basis des rechten Ohres bemerkt man noch eine ganz kleine Erosion.

23. II. 1912: vollständige Heilung.

Kaninchen Nr. 25.

21. XII. 1911: erste intravenöse Infektion.

1. II. 1912: auf der Nase linsengroße Papel.

20. II. 1912: die Papel ist etwas größer geworden, wie eine Erbse.

5. III. 1912: zweite Infektion.

11. III. 1912: die Papel auf der Nase ist breiter geworden und hat sich ulzeriert; sie hat die Dimensionen von $1{,}4 \times 2{,}1$ cm; rundherum sind die Ränder stark infiltriert und bilden eine Erhöhung von 0,7 cm auf dem Niveau der Haut; die Papel ist mit der Haut nach allen Richtungen verschiebbar; bei der Punktion erhält man daraus einen Tropfen weißlichgelber Flüssigkeit, reich an Spirochäten.

12. III. 1912: Gewicht des Tieres 435 Gramm; das Kaninchen erhält intravenös 5,44 ccm einer Verdünnung von $^1/_{500} = 0{,}025$ Gramm Salvarsan.

9 Uhr 30: Injektion.

Nach einer Stunde Spirochäten unverändert.

Nach $1^1/_2$ Stunden Spirochäten unverändert.

Nach 2 Stunden ebenso.

Nach 3 Stunden einige langsam bewegliche Spirochäten.

Nach $3^1/_2$ Stunden ziemlich viele gut bewegliche und einige langsam bewegliche Spirochäten.

Nach 5 und 6 Stunden Befund wie oben.

Nach 7 Stunden noch ziemlich viele gut bewegliche Spirochäten, wenige unbewegliche.

13. III. 1912: 10 Uhr vorm.: ziemlich viele unbewegliche Spirochäten, keine bewegliche.

12 Uhr vorm.: Spirochätenbefund wie oben.

3 Uhr nachm.: degenerierte Spirochätenform.

5 Uhr nachm.: wenige unbewegliche degenerierte Spirochäten.

14. III. 1912: 10 Uhr vorm.: keine Spirochäten mehr zu finden. Mäßige Randinfiltration.

15. III. 1912: Hauterosion 0,8 × 1,5 cm mit oberflächlicher Kruste und sehr schwacher Randinfiltration.

27. III. 1912: Kruste abgefallen, nur noch eine ganz kleine Hautabrasion bemerkbar.

1. IV. 1912: Kaninchen glatt.

Kaninchen Nr. 26.

21. XII. 1911: erste Infektion.

5. III. 1912: zweite Infektion.

20. III. 1912: an der rechten Hälfte der Oberlippe bemerkt man eine Hautpapel von der Größe einer Erbse, auf dem darunter befindlichen Gewebe gut verschiebbar. Oberhalb über dem Nasenbein sind 2 Hautverdichtungen zu bemerken, die sich als zwei plattgedrückte Papeln zeigen, je von der Dimension eines Pfennigstückes, unabhängig von den darunter befindlichen Geweben; bei der Punktion zahlreiche Spirochäten.

22. III. 1912: Die Papeln haben an Dimension etwas zugenommen; Gewicht des Kaninchens 680 Gramm; um 3 Uhr nachmittags erhält das Tier intravenös 4,08 ccm einer Lösung 1:200 Neosalvarsan = 0,03 Gramm pro Kilo.

23. III. 1912: 10 Uhr vormittags: keine Spirochäten mehr zu finden.

27. III. 1912: Haut auf der Nase glatt. Die Papel an der Oberlippe zeigt sich jetzt nur als eine Erhöhung der Haut von der Größe eines Stecknadelkopfes.

6. IV. 1912: glatt.

Kaninchen Nr. 27.

7. II. 1912: erste Infektion.

5. III. 1912: zweite Infektion.

25. III. 1912: dritte Infektion.

17. IV. 1912: Die Nase zeigt sich an ihrer Außenseite an Umfang vergrößert, durch die Infiltration tieferer Partieen unter der Haut; diese Infiltration nimmt die rechte und linke Seite ein, ist aber rechts

mehr ausgeprägt; auf dieser Seite bildet sie eine längliche Erhöhung, welche die Haut nach oben drängt, und stellt eine knorpelige fibroelastische Konsistenz dar. Gegen die Mitte des Schwanzes zeigt sich noch eine erbsengroße Verhärtung.

23. IV. 1912: Die Infiltrationen an Nase und Schwanz haben weiter zugenommen; am Schwanz hat dieselbe die Größe einer Kirsche erreicht. Gewicht des Kaninchens 830 g; es bekommt intravenös 12,45 ccm einer Verdünnung von Neosalvarsan 1:500 = 0,03 g pro Kilo.

24. IV. 1912: Keine Spirochäten mehr zu finden.

29. IV. 1912: Der Schwanz ist jetzt nur noch wenig größer als im Normalzustand; die Nase ist normal; unter der Haut bemerkt man beim Betasten, daß der Knochen vollständig von dem Infiltrationsgewebe entblößt ist, das sich hier gebildet hatte. Gewicht des Tieres 930 g.

15. V. 1912: Glatt.

Kaninchen Nr. 28.

5. III. 1912: erste Infektion.

17. III. 1912: zweite Infektion.

24. IV. 1912: An der oberen Mitte des Schwanzes bemerkt man die Anwesenheit einer Vergrößerung wie eine kleine Nuß, woraus sehr zahlreiche Spirochäten bei der Probepunktion zu erhalten sind.

1. V. 1912: Die Vergrößerung am Schwanz hat etwas zugenommen; sie enthält noch zahlreiche Spirochäten. Oberhalb des Nasenbeines bemerkt man eine deutliche Infiltration der Unterhautgewebe.

8. V. 1912: Die Infiltrationen an Nase und Schwanz haben an Größe zugenommen. Das Kaninchen wiegt 522 g, bekommt intravenös 4,69 ccm einer Neosalvarsanlösung 1:300 = 0,03 g pro Kilo.

9. V. 1912: Bei Punktierung der Verhärtung am Schwanz bemerkt man nur spärliche, unbewegliche Spirochäten.

10. V. 1912: Gewicht des Kaninchens 562 g, keine Spirochäten mehr zu finden, weder am Schwanz noch an der Nase; die Infiltrationen zeigen sich viel schlaffer als vor der Injektion.

20. V. 1912: Glatt.

Kaninchen Nr. 29.

5. III. 1912: erste Infektion.

17. IV. 1912: zweite Infektion.

6. V. 1912: Auf der rechten Seite der Nase sieht man eine starke Anschwellung in der Form einer Hautpapel mit den Durchmessern von 1,5 × 1,5 cm; sie erhebt sich 1 cm über das Niveau

der Haut, ist in der Mitte ulzeriert, mit einer Kruste überzogen, und gänzlich auf der Unterlage beweglich; noch an der Nase, vorn an der Außenseite erscheint eine Verdickung, die von einer Infiltration der tiefliegenden Gewebe herrührt; am Schwanz bemerkt man am distalen Drittel eine Anschwellung in der Größe einer Mandel.

13. V. 1912: Die Papel auf der rechten Nasenseite hat an Umfang zugenommen; links sieht man nun eine kleine Hautveränderung mit den Eigentümlichkeiten der rechtsseitigen, aber von geringerer Dimension; sie erreicht kaum die Größe einer Erbse.

21. V. 1912: Die Dimensionen der Papel rechts sind 2,5 × 2,5 × 1 cm; die linke hat die Dimension einer Bohne; die Infiltration am Schwanze ist ulzeriert und mit einer dichten Kruste bedeckt; bei allen diesen Ercheinungen beobachtet man bei der Probepunktion zahlreiche Spirochäten. Gewicht des Tieres 700 g; das Kaninchen bekommt intravenös 5,18 ccm einer Neosalvarsanlösung 1 : 200 = 0,037 g pro kg Gewicht.

21. V. 1912: 9 Uhr vormittags: Injektion.

4 Uhr nachmittags: gut bewegliche Spirochäten (ziemlich viele) und einige langsam bewegliche.

22. V. 1912: 10 Uhr vormittags: keine Spirochäten mehr.

23. V. 1912: Die Infiltration an den Rändern der Papel links ist gänzlich verschwunden; es bleibt nur eine kleine Hauterosion mit einer oberflächlichen Kruste; die Verhärtung auf der rechten Seite ist sichtlich kleiner und weicher als vor der Injektion.

28. V. 1912: Die Infiltration am Schwanze ist verschwunden; an deren Stelle bemerkt man ein kleines Geschwür mit einer trockenen Kruste; die Infiltration der tiefen Gewebe an der Nase ist vollständig resorbiert; an der Haut der rechten Seite ist nur noch eine trockene Kruste vorhanden mit den Durchmessern von 1,7 × 1,7 cm.

1. VI. 1912: Die linke Seite der Nase ist glatt; auf der rechten ist die Kruste abgefallen; noch ein sehr kleines Hautgeschwür mit einer sehr spärlichen Infiltration.

6. VI. 1912: Glatt beiderseits.

Alle Kaninchen, deren klinische Geschichte oben auseinandergesetzt wurde, haben monatelang unter Beobachtung gestanden, und man hat niemals einen Rückfall wahrgenommen.

Aus den klinischen Geschichten der oben berichteten Kaninchen

ergibt sich also, daß die Injektion von Salvarsan in einer Dosis zwischen 0,025—0,03 für je 1 Kilogramm Gewicht des Tieres zum Verschwinden der Spirochäten aus den Framboesieerscheinungen führt und zwar in einer Zeit, welche zwischen 24 und 48 Stunden variiert; schon am 2. Tage nach der Injektion bemerkt man sehr bedeutende Modifikationen in dem äußeren Anblick der Hautpapeln, da die Randinfiltration verschwindet, die Kruste trocken wird und in 3—5 Tagen abfällt; in wenigen Tagen erfolgt die definitive Heilung des Kaninchens. Analoge Resultate erzielt man mittels Injektion von Neosalvarsan in der Dosis von 0,03 g pro Kilo Gewicht des Tieres.

Betrachten wir nun die Verhältnisse der Menge von Salvarsan und Neosalvarsan, die nötig sind für eine Sterilisation des an generalisierter Framboesie leidenden Kaninchens innerhalb einer Frist von 24 bis 48 Stunden, so sehen wir, daß, trotzdem ein Teil Neosalvarsan nur $^2/_3$ von Dioxydiamidoarsenobenzol enthält, die nötige Menge noch 0,03 g ist gleichwie beim Salvarsan, was für einen beträchtlichen Vorzug des neuen Präparates gilt. Wir müssen auch das Neo- dem Salvarsan vorziehen bei Berücksichtigung der Verschiedenheit der Toxizität beider Mittel. In der Tat liegt die Dosis tolerata von Salvarsan bei einem Kaninchen von 1 kg Gewicht zwischen 0,1 und 0,11 g, während die von mir ausgeführten zahlreichen Versuche gezeigt haben, daß ein Kaninchen von 1 kg Gewicht gut die intravenöse Injektion von 0,3 g Neosalvarsan verträgt. Die Lösung muß mit aller gebotenen Vorsicht gemacht werden, sowohl hinsichtlich der frischen Destillierung des Wassers als auch der Verhinderung der Oxydationsprozesse. Die sterilisierende Dosis des Neosalvarsans bei Kaninchen, die an generalisierter Framboesie erkrankt sind, beträgt danach nur $^1/_{10}$ der Dosis tolerata.

Die so günstigen Resultate bei der experimentellen Framboesie entsprechen vollständig denjenigen, welche man bei der Behandlung der menschlichen Framboesie mit Dioxydiamidoarsenobenzol erzielt hat.

Und zwar scheint bei dieser Krankheit, wo vor der Anwendung des Salvarsans die Therapie nahezu harmlos war (Strong Daniels), eine einzige Injektion des Mittels die komplette Sterilisierung des menschlichen Organismus zu bewirken: der Befund von Strong[40] ist ja bekannt, nach welchem das Salvarsan ein ideales Specificum gegen Framboesie bildet: „Wirklich kann man das Verschwinden der Erscheinungen und die Heilwirkung nur mit dem Worte wunderbar bezeichnen. Es dürfte wohl kaum in der ganzen Medizin ein frappan-

teres Beispiel für die spezifische Wirkung eines Mittels geben, als die des Dioxydiamidoarsenobenzols bei Framboesie."

Überraschende Resultate beobachteten noch alle anderen Forscher, wie z. B. Mayer*), Leber*), Alston[1], Castellani[12], Rost[35], Flu[14]; und Nichols[30, 13] für die experimentelle Yaws.

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß gerade bei dem Kaninchen mit generalisierter Framboesie trotz der in dem Organismus vorhandenen Zahl der Spirochäten, welche größer ist als die Zahl der Spirochäten bei Tieren mit nur einer einzigen Erscheinung am Skrotum (infolge einer Lokalinokulation), die heilende Dosis nicht größer ist, sondern sogar unter gewissen Gesichtspunkten als kleiner angesehen werden muß als die zur Sterilisation des Primäraffekts nötige Dosis.

In der Tat hat das Kaninchen Nr. 21 mit Lokalerscheinungen von Framboesie am Skrotum eine Injektion von 0,035 g (pro kg Gewicht) Neosalvarsan erhalten. 24 Stunden nach der Injektion konnte man bei der Prüfung des mittels Punktion erhaltenen Saftes am Paraboloid unbewegliche Spirochäten beobachten, und noch 48 Stunden nach der Injektion waren wenige degenerierte Formen wahrzunehmen; die Schanker heilten in 24 Tagen. Das Kaninchen Nr. 22 mit Erscheinungen von lokalisierter Framboesie am Skrotum hat eine Injektion von 0,02 g (pro kg Gewicht) Neosalvarsan erhalten. 24 Stunden später konnte man einige langsam bewegliche Spirochäten beobachten; erst am 4. Tage waren die Schanker frei von Spirochäten, und das Tier war am 34. Tage geheilt.

Die Dosis von 0,03 g Neosalvarsan ist dagegen bei Kaninchen mit generalisierter Framboesie genügend zur Herbeiführung des Verschwindens der Spirochäten binnen 24 Stunden.

Analoge Versuche habe ich bei Kaninchen ausgeführt, die an Syphilis erkrankt waren. Die Berichte hierüber fasse ich in der Tabelle II zusammen. Das erste Kaninchen (Nr. 30) war am Skrotum inokuliert und zeigte einen Schanker von $2{,}3 \times 2{,}8 \times 1{,}3$ cm Durchmessern. Das zweite Kaninchen (Nr. 31) zeigte Schanker am Skrotum beiderseits mit Durchmessern auf der rechten Seite von $2{,}1 \times 2{,}3 \times 1{,}4$ cm und auf der linken Seite von $2 \times 2{,}2 \times 1{,}5$ cm. Das dritte Kaninchen (Nr. 32) war dreimal in die Randader des Ohres mit einer Aufschwemmung von Treponema pallidum infiziert worden

*) Archiv f. Schiffs- u. Tropen-Hygiene, Bd. 16, Heft 6. 1912.

	Kaninchen Nr. 30.	Kaninchen Nr. 31.	Kaninchen Nr. 32.
	26. VII. 1911. Infektion subkutan auf beiden Hoden. 10. VIII. 1911. Beiderseits erbsengroße Indurationen. 20. VIII. 1911. Links bohnengroße Induration. 4. IX. 1911. Links haselnußgroße Induration mit intakter Haut, rechts glatt. 19. IX. 1911. Links Schanker 1,5 × 1,6 × 1,1 cm. 25. IX. 1911. Links Schanker 1,9 × 2,1 × 1,2 cm. 5. X. 1911. Links Schanker 2,3 × 2,7 × 1,3 cm. 9. X. 1911. Links Schanker 2,3 × 2,8 × 1,3 cm mit großer Kruste, am Dunkelfeld-Kondensor sehr viele gut bewegliche Spirochäten. Gewicht des Tieres 1650 g, erhält intravenös 29,7 ccm einer Verdünnung $^1/_{300}$ aus Salvarsan = 0,06 pro Kilo Gewicht.	2. IX. 1910. Infektion subkutan auf beiden Hoden. 25. IX. 1910. Beiderseits kleine Schanker. 29. IX. 1910. Beiderseits Schanker von 1,2 × 1,4 × 1,1 cm. 12. X. 1910. Rechts Schanker mit Durchmessern von 2,1 × 2,3 × 1,4 cm, links Schanker von 2 × 2,2 × 1,5 cm. Am Dunkelfeld-Kondensor sehr viele gut bewegliche Spirochäten. Gewicht des Kaninchens 1970 g; erhält intravenös 17,73 ccm einer Verdünnung $^1/_{300}$ aus Salvarsan = 0,045 pro Kilo Gewicht.	17. V. 1910 erste intrav. Infekt. 27. V. 1910 zweite intrav. Infekt. 10. VI. 1910 dritte intrav. Infekt. 28. IX. 1910. Über dem Nasenbein bemerkt man einen rundlichen Höcker von fibroelastischer Konsistenz, mit der Unterlage fest und unverschieblich verbunden. 7. X. 1910. Der Höcker auf dem Nasenbein ist größer geworden, hat den Durchmesser von 1 × 1,1 × 1 cm erreicht. In dem Punktionssaft bemerkt man sehr zahlreiche gut bewegliche Spirochäten. An den Fersen der linken Beine bohnengroße Induration mit glatter, roter Oberfläche und Haarausfall. 14. X. 1910. Gewicht des Tieres 1400 g, erhält intrav. 10,5 ccm einer Verdünnung $^1/_{300}$ aus Salvarsan = 0,025 pro Kilo Gewicht.

1 Stunde nach der Injekt.	Einige langsam bewegliche Spirochäten.	Einige langsam bewegliche Spirochäten.	Kolossal viele gutbewegliche Spirochäten.
2 Stunden " " "	Einzelne unbewegliche Spirochäten, die übrigen langsam beweglich.	Meistens gutbewegliche Spirochäten, wenige langsam bewegliche, einige unbewegliche.	Weniger und langsam bewegliche Spirochäten.
3 " " " "	Viele unbewegliche, alle anderen langsam beweglich.	Spirochäten weniger, meistens unbeweglich, andere langsam beweglich; nur einzelne gutbewegliche.	Ziemlich viele gutbewegliche, einige langsam bewegliche, einige unbewegliche, einige degenerierte Formen.
4 " " " "	Wenige Spirochäten, meistens unbewegliche.	Noch weniger Spirochäten, einige langsam beweglich.	2 ziemlich gut bew. und 1 langs. bewegl., 30 Minuten später: 2 unbewegl. Spirochäten in 4 Präparat.
5 " " " "	Noch einige langsam bewegliche Spirochäten.	Noch weniger Spirochäten, einige langsam beweglich.	Keine Spirochäten (7 Präparate).
6 " " " "	Noch einige langsam bewegliche Spirochäten.	Noch einige langsam bewegliche, fast alle unbewegl., degeneriert.	—
7 " " " "	Einzelne langsam bewegl., andere unbeweglich und degeneriert.	Einzelne sehr langsam bewegliche, wenige unbewegl. degenerierte.	Keine Spirochäten (9 Präparate).
9 " " " "	—	—	Keine Spirochäten (5 Präparate).
24 " " " "	Sehr wenig unbewegliche und degenerierte Spirochäten.	Sehr wenig degenerierte Spirochäten.	Einige unbewegliche degenerierte Spirochäten.
32 " " " "	Keine Spirochäten.	Sehr wenig degenerierte Spirochäten (4 Präparate frei, in 1 Präparat 3 degenerierte Formen).	—
48 " " " "	Keine Spirochäten.	Einzelne (sehr wenig) degenerierte Spirochäten.	2 unbewegliche degenerierte Spirochäten (9 Präparate).
62 " " " "	Keine Spirochäten.	Unbewegl. degener. Spirochäten.	Keine Spirochäten.
4. Tag	—	Noch degenerierte Spirochäten.	Keine Spirochäten.
5. "	—	Noch degenerierte Spirochäten.	—
6. "	—	Keine Spirochäten mehr.	—
	Nach 21 Tagen Narbe.	Nach 30 Tagen Narbe.	Am 10. Tage geheilt.

und zeigte eine Infiltration der tiefliegenden Nasengewebe in Form einer Geschwulst, welche die ganze Breite des Nasenbeines einnahm und sich auf dem oberen Teile ungefähr 1 cm ausbreitete, wobei sie sich 1 cm über das Niveau der Haut erhob. Das Tier zeigte noch eine bohnengroße Induration auf der linken Hinterpfote.

Diese Kaninchen wurden auf das Vorhandensein von Spirochäten geprüft und zwar jede halbe Stunde nach der Injektion.

Von den zwei Kaninchen mit Lokalerscheinungen bekam das erste 0,06 g, das zweite 0,045 g Salvarsan. Ersteres zeigte am Schanker langsam bewegliche Spirochäten bis 7 Stunden und unbewegliche Spirochäten bis 24 Stunden nach der Injektion; das zweite wies langsam bewegliche Spirochäten auf bis 8 Stunden und unbewegliche Spirochäten noch am 5. Tage nach der Injektion.

Bei dem Kaninchen mit generalisierter Syphilis bemerkte man schon $4^1/_2$ Stunden nach der Darreichung von 0,025 g Salvarsan nur zwei unbewegliche Spirochäten (in 4 Präparaten); nach 5 Stunden war der Befund negativ; nach $5^1/_2$ Stunden konnte man nur drei sehr langsam bewegliche Spirochäten finden und sehr wenig unbewegliche; nach 7 Stunden waren keine beweglichen Spirochäten mehr zu sehen; nach 9 Stunden war der Befund wie oben; nach 24 Stunden waren nur einige degenerierte Formen (9 Präparate); nach 48 Stunden zwei degenerierte Spirochäten (9 Präparate); am 3., 4. und 5. Tage nach der Injektion war das Tier von Spirochäten frei. Nun kann man bedenken, daß diese stärkere Wirkung des Mittels in den Fällen von generalisierter, im Vergleich mit den Fällen von am Skrotum lokalisierter Syphilis und Framboesie nicht nur von verschiedenen mechanischen Bedingungen herrührt (reichlicherer Blutfluß), sondern auch, und vielleicht hauptsächlich, von der Wirkung des Antikörpers. Mit Ehrlich können wir in der Tat uns die vollständige Sterilisation des Organismus als abhängig von zwei verschiedenen Faktoren vorstellen: die eingeführte chemische Substanz führt zur Abtötung eines Teiles der Parasiten, und diese rufen die Bildung der Antikörper hervor; so hätte man eine Verstärkung der Heilwirkung des Chemikale durch die sukkursale Bildung der Antikörper.

Was die Möglichkeit, einen stärkeren Ictus immunitorius erzielen zu können, betrifft, so ist die Generalisierung des framboetischen und syphilitischen Virus bei den Tieren von großer Wichtigkeit.

Ist Yaws Syphilis?

Wir haben oben auf die tiefgehenden Meinungsverschiedenheiten unter den Autoren auf diesem Gebiet hingewiesen. Gegenüber den Unitariern, nach welchen, mit Hutchinson[21] an der Spitze, Framboesie und Syphilis identisch und nur durch lange Fortpflanzung bei verschiedenen Rassen modifiziert sind, stehen die Dualisten, welche mit Neißer[27] beide als ätiologisch vollkommen differente Krankheiten betrachten, die in demselben Tier nebeneinander vorkommen können und sich nicht beeinflussen. Auch fehlt es nicht an Meinungen, welche in der Mitte stehen und nach denen beide als zwei nosologisch voneinander zu unterscheidende Krankheiten anzusehen sind, die aber unter sich eine gewisse Verwandtschaft zeigen (Levaditi[28]).

Bei der fünften Tagung der deutschen Tropenmedizinischen Gesellschaft haben Plehn[34], Baermann und Schüffner[4] neuerdings den gegenwärtigen Stand der Frage auseinandergesetzt; Plehn fügte den Folgerungen hinzu, daß die Zweiheit der beiden Krankheiten aufrecht erhalten werden dürfe, obwohl sie sich gleichen wie Zwillingsschwestern, die in den meisten Erscheinungsformen gar nicht sicher zu unterscheiden sind. Baermann und Schüffner fassen die chronischen Spirochätosen in eine einheitliche Gruppe zusammen, zu der Framboesie, Syphilis, vielleicht auch Gangosa und noch manches andere heute noch ungenau beschriebene Krankheitsbild gehören, während sie nach Fülleborn[16] recht verschiedene Krankheitsbilder sind.

Die klinischen Daten hierüber sagen, daß sowohl vom Standpunkt der Symptomatologie als auch hinsichtlich des anatomo-pathologischen Bildes der einzelnen Erscheinungen und ihres Verlaufs zwischen diesen Krankheiten zahlreiche Ähnlichkeiten bestehen. In Wahrheit fehlt es nicht an differentialen Symptomen zwischen typischen Fällen der einen wie der anderen Krankheitsform. Aber sowohl die Framboesie wie die Syphilis bieten neben den charakteristischen Formen eine so häufige Verschiedenheit, daß ihre Eigentümlichkeiten sich vermischen, und sogar erfahrene Tropenärzte und Hautspezialisten zugeben mußten, daß sie sich nicht immer für eine bestimmte klinische Diagnose entscheiden konnten.

Es ist hier nicht der Platz, um alle die klinischen Einzelheiten ausführlich wiederzugeben; es genügt hier, zu zeigen, wie die Meinungen der Autoren voneinander abweichen, und zu erwähnen, daß, während

Charlouis[18], Henggeler[18], Nicolas[32] die framboetische Natur der sogenannten Tertiärformen durchaus negieren, Lenz[22] und Howard[20, 15] dieselben ausführlich beschreiben, Brug[5] annimmt, daß viele in den Tropen als tertiäre Syphilis beobachtete Fälle tertiäre Framboesieformen sind; er schließt dies hauptsächlich daraus, weil in dem von ihm behandelten Bezirk, wo die Framboesie sehr verbreitet ist, primäre, sekundäre oder hereditäre Syphilis nicht vorkommt, dagegen reichlich scheinbar syphilitische Tertiärerscheinungen beobachtet werden.

Die Entdeckung von Castellani hat die Frage nicht gelöst; zwar könnte man, selbst wenn die morphologische Identität des Treponema pallidum und des Treponema pertenue nachgewiesen wäre, daraus in keiner Weise auf die Identität der hierdurch hervorgerufenen Krankheitsformen schließen, und dazu diskutiert man immer noch, ob diese beiden parasitären Erreger morphologisch gleich oder verschieden seien. Aus den Arbeiten, welche hinsichtlich dieses Themas gesammelt worden sind, können wir mit Mühlens[25] den Schluß ziehen, daß die Ansichten über die Morphologie des Treponema pertenue noch nicht in allen Punkten übereinstimmen, sich vielmehr zum Teil diametral gegenüberstehen. Diese sich widersprechenden Resultate können zum Teil aus der Art der Herstellung des gefärbten Präparates erklärt werden, welches häufig die Form des Bildes beeinflußt. Mir aber scheint zur Erklärung dieser Verschiedenheit der Resultate die Tatsache von Wichtigkeit zu sein, daß die Morphologie des Treponema variiert vielleicht auch durch die verschiedene Beschaffenheit des Stammes. Die Lebenduntersuchung mittels Dunkelfeldbeleuchtung zeigt, daß sehr häufig sowohl das Treponema pallidum als auch das Treponema pertenue verschieden erscheinen und zwar hinsichtlich der Dimensionen (Länge und Breite) wie auch der Beweglichkeit, Anzahl und Regelmäßigkeit der Windungen. — Die Verschiedenheiten kommen sogar häufig bei demselben Stamm bei den Treponemen desselben Subjekts vor, wenn man die Prüfung in einem Abstand von einigen Tagen wiederholt, so daß auch Nichols[31] behauptet: „Ich fühle mich nicht kompetent, auf morphologischer Grundlage allein die Organismen zu unterscheiden."

Castellani[11] kam zuerst auf den Gedanken, in der Serumdiagnose ein Mittel zur Unterscheidung zwischen Framboesie und Syphilis zu sehen, und in der Tat hätte man mittels der Komplementablenkung nach Castellani bei Framboesie spezifische An-

tigene und Antikörper nachweisen können, verschieden von denen bei Syphilis. Aber diese Versuche wurden von Baermann, Brug, Blumenthal und Schüffner nicht bestätigt.

Selbst nicht die Tatsache, daß Framboesie und Syphilis bei Salvarsan in analoger Weise reagieren, berechtigt dazu, Beziehungen zwischen diesen beiden Krankheiten anzunehmen. Das Salvarsan hat sich ganz eigentlich als spirillotrop erwiesen und seine Wirkung bestätigt sich unter Krankheiten, die ganz fern voneinander liegen, die aber von Spirillen hervorgerufen werden.

Man hat mit Recht betreffs der Lösung dieser Frage große Hoffnung auf die Inokulationsversuche gesetzt; man kam der Frage in doppelter Beziehung näher: man hat versucht, Verschiedenheiten zwischen den durch die Inokulationen von Treponema pallidum hervorgerufenen Veränderungen und jenen, welche durch Inokulation von Treponema pertenue hervorgerufen wurden, festzustellen; und man versucht noch, mittels Experimente gekreuzter Reinokulation darzutun, wie sich diese Mikroorganismen gegenüber der Immunität verhalten. Halberstädter[17], Nichols[29], Ashburn und Craig[2] stimmen in der Angabe überein, daß Treponema pallidum und pertenue voneinander unterschieden werden können, weil ihre Inokulation in einem Affen Erscheinungen von verschiedenem Charakter hervorruft: bei Yaws ist der Primäraffekt erhaben, leicht schuppig und sehr ödematös; bei Syphilis ist derselbe flach, trocken und sehr schuppig. Ich glaube, daß man in dem häufigeren Auftreten der papulösen Erscheinungen am Kopf des mit Treponema pertenue injizierten Kaninchens ein Mittel hat zur Unterscheidung der beiden Formen. Die vergleichenden Versuche, welche ich bei Kaninchen mittels Injektion einer Aufschwemmung von Treponema pallidum angestellt habe, haben mir bis jetzt gezeigt, daß die Erscheinungen am Kopf des syphilitischen Kaninchens meistens den Anblick jener gummiartigen Knötchen an der Nase bieten, wie sie zuerst von Uhlenhuth und Mulzer[41] beschrieben worden sind. Ich kann jetzt nicht sagen, ob dieser Charakter von absolut differentialem Wert ist, auch für die Injektion verschiedener Stämme. Sicherlich scheint die intravenöse Injektion von framboetischem Material bei den Kaninchen meistens Veranlassung zur Entstehung von Erscheinungen in Form von Papeln der Haut zu geben.

Die ersten Versuche über gekreuzte Immunität gehen auf viele Jahre zurück; Charlouis[13] beim Menschen, Neißer[28] und seine

Mitarbeiter und Castellani[11] haben gezeigt, daß Framboesie nicht gegen Syphilis schützt und ebenso Syphilis nicht gegen Framboesie; nur daß Levaditi und Nattan-Larrier[23] 5 syphilitische Affen mit Pian infizierten und jedesmal mit negativem Erfolg. Kürzlich nahm Nichols[31] die Frage wieder auf und inokulierte mit Yaws syphilitische Kaninchen wenige Tage, nachdem er sie mit Salvarsan geheilt hatte. Er machte die Beobachtung, daß bei Kaninchen, die mit Syphilis schon infiziert und dann mit Salvarsan geheilt worden waren, die nur wenige Tage nach der Darreichung des Mittels erfolgte Reinokulation von Syphilis ein negatives Resultat gab, die Inokulation mit Yaws dagegen immer ein positives; die Erscheinungen aber sind kleiner und die Inkubationsperiode länger als gewöhnlich. Er denkt, daß bei diesen Tieren die Reinokulation mit Treponema pallidum negativ ist, weil die durch die Injektion von Salvarsan hervorgerufenen Antikörper im Blutkreislauf vorhanden seien: die Entwicklung von Treponema pertenue dagegen würde nicht von diesen Antikörpern beeinflußt. Also kommt er zu dem Schluß, daß mittels einer experimentellen Reinokulation bei Kaninchen ein Unterschied zwischen den beiden Krankheiten bewiesen werden kann. Wenn daher bei Tieren mit nur Lokalerscheinungen die durch Einspritzen von Salvarsan hervorgerufenen Antikörper eine so große Rolle spielen können, dürften die mit generalisierter Syphilis und Yaws infizierten Kaninchen vielleicht für die oben angeführten Versuche besser geeignet sein, weil hier die größere Parasitenmenge bei einer Abtötung einen stärkeren „Ictus immunitorius" auslösen müßte. Es scheint jedoch nicht, daß man aus den Versuchen von Nichols ohne weiteres den Schluß ziehen kann, als ob Framboesie und Syphilis zwei ganz unabhängige Krankheiten seien. Man muß zuerst nachweisen, ob das negative Resultat der Reinfektion mit Syphilis auch noch besteht, wenn die Reinfektion mit einem von dem der Infektion verschiedenen Stamm ausgeführt wird. Denn man kann bei der Syphilis und Framboesie das Auftreten eines analogen Faktums vermuten, wie bei den Trypanosomen, bei den Recurrens- und Hühnerspirochäten, wo der Organismus immun gegen den Ausgangsstamm nicht immun gegen den Rezidivstamm ist. Und deshalb ist eine Erweiterung der Nicholschen Versuche auf größerer Basis notwendig.

Nach meiner Ansicht sind auch für diesen Zweck die an der Haut des Skrotum durch das oben beschriebene Verfahren hervorgerufenen Affektionen besser geeignet, als die Prozesse von Orchitis und

Periorchitis specifica. Und ich glaube noch, daß für diese Versuche von gekreuzter Immunität die Generalisierung des Virus im ganzen Organismus des Tieres eine wichtige Rolle spielen kann. Für die Lösung dieser Frage der Beziehungen zwischen Framboesie und Syphilis, die von großem Interesse ist und zwar nicht nur theoretischer Art, lassen uns die oben auseinandergesetzten Beobachtungen glauben, daß das häufige Auftreten der papulösen Erscheinungen, welche man mittels Generalisierung des Virus im Organismus des Kaninchens erhält, ein Kriterium für die Differentialdiagnose bilden können. Außerdem ermöglicht die Verwendung von Kaninchen an Stelle von Affen, die Experimente von gekreuzter Immunität in dem notwendig ausgedehnten Maßstabe zu organisieren.

An dieser Stelle kann ich nicht umhin, Sr. Exzellenz Herrn Geheimrat Prof. Dr. Ehrlich für seine liebenswürdige Unterstützung bei Anfertigung dieser Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Für die Photographie der Kaninchen (in natürlicher Größe) bin ich der hiesigen Kunstanstalt Werner und Winter zu Dank verpflichtet.

Literatur.

1. Alston, Brit. med. Journ. 1911, 18. II. und 18. III; 1912, 6. I.
2. Ashburn und Craig, The Military Surgeon XXIII, Heft 2/3. 1908.
3. Baermann, Archiv f. Schiffs- u. Tropenhyg., 15, Beiheft 6, 1911.
4. Baermann u. Schüffner, Archiv f. Schiffs- u. Tropenhyg., 16, Beiheft 4, 1912.
5. Brug, Geneesk Tijdschr. v. Nederl. Indie 1911 (Ref. im Archiv für Dermat. u. Syph., Ref. C, XII. Bd., Heft 1).
6. Calder, The British med. Journal, Febr. 14. 1903.
7. Castellani, Brit. med. Journ. 1905.
8. Derselbe, Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 4.
9. Derselbe, Journ. of Trop. Med. 1906, Nr. 1.
10. Derselbe, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1907, Heft 1.
11. Derselbe, Journ. of Hyg. 1907, Bd. 7, Nr. 4.
12. Derselbe, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1908, H. 10 u. 1911, H. 1.
13. Charlouis, Vierteljahrsschr. f. Dermatol. u. Syph. 1881, S. 431.
14. Flu, Münch. med. Wochenschr. 1911, Nr. 45.

15. Fox, Brit. med. Journal, 28. Febr. 1903, S. 522.

16. Fülleborn, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., 16, Beiheft 4, 1912, S. 60.

17. Halberstädter, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt 1907, Bd. XXVI, Heft 1.

18. Henggeler, Monatsh. f. prakt. Dermatol. 1905, Bd. 40.

19. Hoffmann, Berl. Dermat. Gesellschaft. Sitzung vom 10. 12. 1907. (Berichte im Archiv f. Dermat. u. Syph. 1908, Bd. 89.)

20. Howard, Journ. of trop. Med. 1. VII. 1908.

21. Hutchinson, Journ. of trop. Med. 1900, S. 23.

22. Lenz, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., XIII, 1909.

23. Levaditi und Nattan-Larrier, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1908, T. 22, No. 3, C. R. Soc. biol. 1908, T. 64, Boll. Soc. Path. exot. I. 1908.

24. Loehe, Dermat. Zeitschr., XVI, 1909, S. 229.

25. Mühlens, Treponema pertenue; im Handb. der Path. Protozoen. Barth, Leipzig 1912.

26. Neißer, Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 38 u. 43.

27. Derselbe, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., XII, 6, 1908.

28. Neißer, Baermann und Halberstädter, Münch. med. Wochenschrift 1906.

29. Nichols, Journ. of exper. Med. XII, 5, 1910.

30. Derselbe, Journ. of Americ. med. Assoc. 16. 7. 1910.

31. Derselbe, Journ. of experim. Med. XIV, 2, 1911.

32. Nicolas, Boll. Soc. Path. exot., Bd. 1, 1908, S. 484—487.

33. Plehn, Die tropischen Hautkrankheiten; im Handbuch der Tropenkrankheiten. Barth, Leipzig, 1905.

34. Derselbe, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., 16, Beiheft 4. 1912.

35. Rost, Münch. med. Wochenschr. 1911, Heft 21.

36. Scheube, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1902, 5, S. 177, und 6, S. 236.

37. Derselbe, Krankheiten der warmen Länder. Fischer, Jena 1910.

38. Schüffner, Münch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 28.

39. Siebert, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1907, Heft 22, und 1908, Beiheft 5.

40. Strong, Münch. med. Wochenschr. 1910, und 1911, Nr. 8; Archiv f. Schiffs- u. Tropenhyg., 1911, Bd. XV, Heft 6, S. 189 und Journ. of Exp. med. 1911, XIII, 4.

41. Uhlenhuth und Mulzer, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt; 1910. Bd. XXXIV, Heft 2.

42. Dieselben, C. f. Bakteriol., I Teil, Orig. Band 64 (Festschrift für Loeffler).

43. Unna, Die Histopathologie der Hautkrankheiten. Berlin, 1904.

44. White und Tyzzen, Journal of cutaneous Diseases including Syphilis (Ref. im Monatsh. f. prakt. Dermat., 52, S. 479, 1911).

Erklärung zu den Tafeln IV/VII.

Tafel IV.

Fig. 1. Framboesiapapeln am Kopf des Kaninchens Nr. 2. (Siehe Seite 171.)

Fig. 2. Framboesiapapeln am Kopf des Kaninchens Nr. 3. (Siehe Seite 172.)

Tafel V.

Fig. 1. Framboesiapapel am Ohr und Keratitis bei dem Kaninchen Nr. 24. (Siehe Seite 184.)

Fig. 2. Framboesiapapel an der Lippe des Kaninchens Nr. 25. (Siehe Seite 186.)

Tafel VI.

Fig. 1. Framboesiageschwür auf der vorderen Pfote des Kaninchens Nr. 19. (Siehe Seite 176.)

Fig. 2. Infiltriertes Gewebe an der Ausmündung der Urethra des Kaninchens Nr. 18. (Siehe Seite 177.)

Fig. 3. Angeschwollener Schwanz bei dem Kaninchen Nr. 5. (Siehe Seite 173.)

Fig. 4. Hinterpfote des Kaninchens Nr. 3. (Siehe Seite 172.)

Tafel VII.

Fig. 1. Schnitt durch eine Papel am Kopf des Kaninchens Nr. 4. (Siehe Seite 178.) (Zenker, Hämatoxylin-Eosin; Vergr. Zeiß, Obj. AA Okul. 2. Mikrophotographie von Dr. Winter).

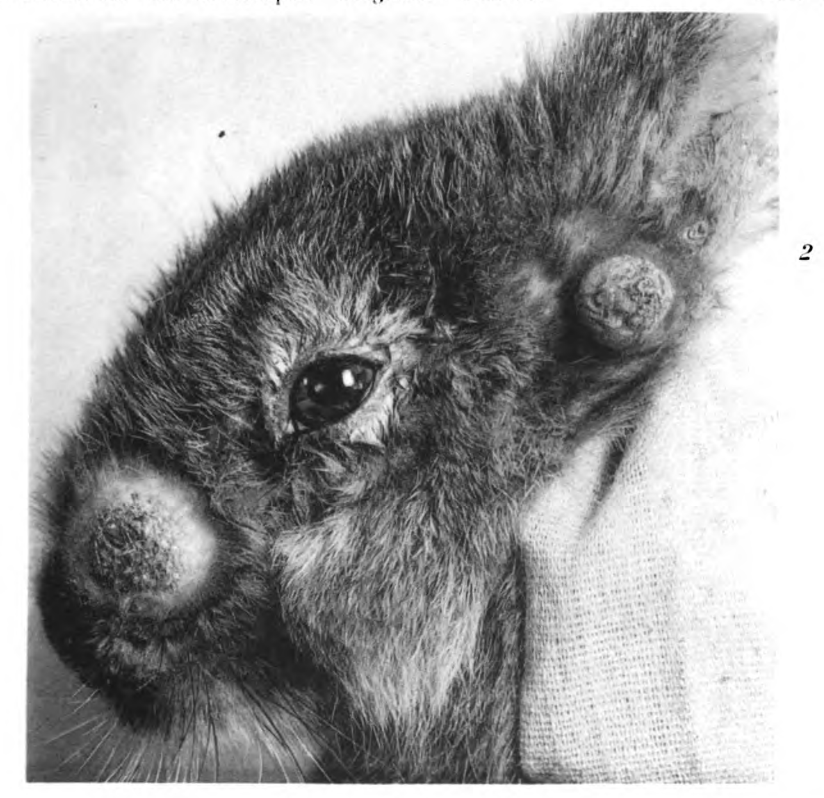
Fig. 2. Vertikalschnitt durch die neugebildeten Granulationsknötchen an der Schnauze des Kaninchens Nr. 13. (Siehe Seite 175.)
H) Haut. G) Granulationsgewebe. Nb) Nasenbein.

Fig. 3, 4, 5 u. 6. Schnitt durch die neugebildeten Granulationsknötchen an der Schnauze des Kaninchens Nr. 13. (Siehe Seite 175.)

Fig. 3. Gefäßveränderung. (Sublimat, van Gieson; Vergr. Zeiß, Obj. DD Okul. 4.)

Fig. 4. Plasmazellen. (Alkohol, Unna-Pappenheim; Vergr. Zeiß, Obj. DD Okul. 4.)

Fig. 5, 6. Riesenzellen. (Zenker, Hämatoxylin-Eosin; Vergr. Zeiß, Obj. AA Okul. 4.)



2



1

Dr. G. Castelli, Frankfurt a M. Verlag von Georg Thieme, Leipzig. Werner u Winter, Frankfurt a M.

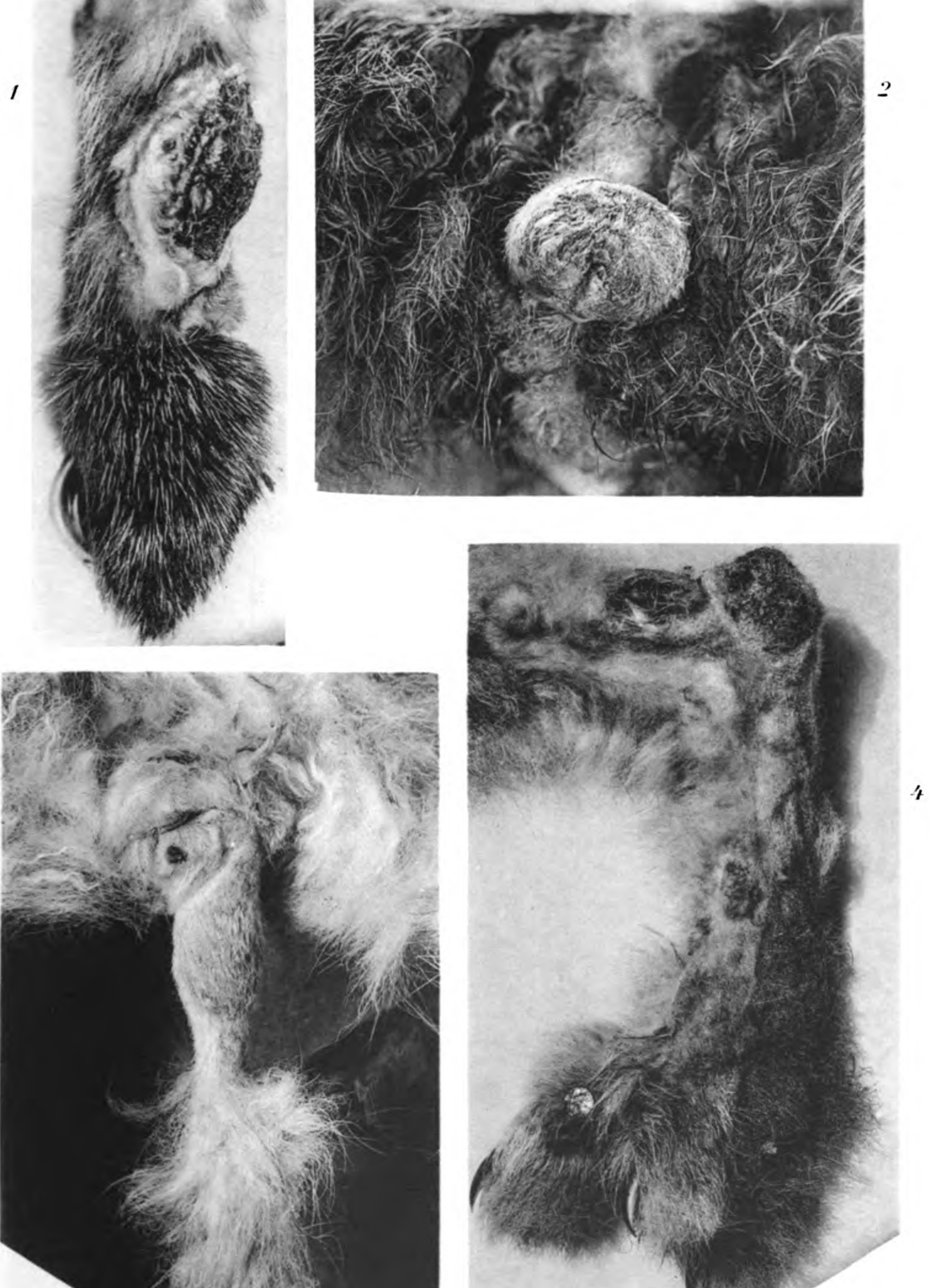


1



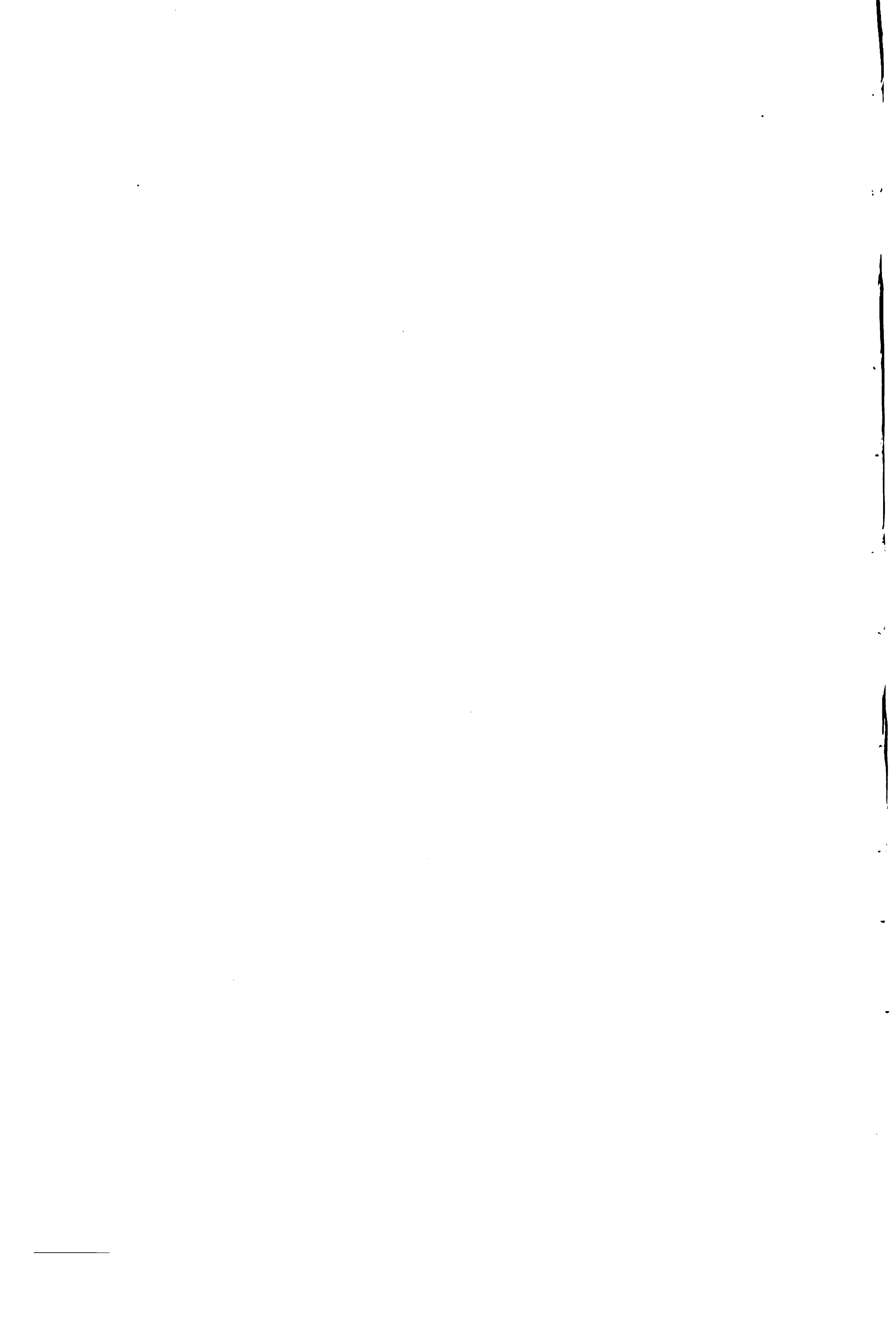
2

Dr G. Castelli, Frankfurt a M Verlag von Georg Thieme, Leipzig. Werner u Winter, Frankfurt a M.



1 2 3 4

Dr. G. Castelli, Frankfurt a. M. Verlag von Georg Thieme, Leipzig Werner u. Winter, Frankfurt a. M.



Aus der königlichen dermatologischen Universitätsklinik zu Breslau.
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Neisser.)

Einige Versuche über die Wirkung der Antimonsalze auf die Kaninchensyphilis.

Von

Dr. **Paul Dubois** aus Brüssel.
fr. Volontärarzt an der Klinik.

Seit den Arbeiten Ehrlichs und seiner Schüler ist die Frage der Chemotherapie der Spirillosen in den letzten Jahren Gegenstand größeren Interesses geworden; besonders seit den Erfolgen, die mit Arsensalzen, wie Arsacetin, Arsenophenylglycin, Arsenobenzol vornehmlich bei der Syphilis erzielt worden sind.

In den letzten drei Jahren wurden ähnliche Wirkungen auch durch Antimonpräparate erreicht, und zwar zeigten sich diese von sicherem Einfluß auf durch Tryanosomen verursachte Erkrankungen, während bei Spirillosen und speziell bei Syphilis ein therapeutischer Effekt noch nicht festgestellt war.

In bezug auf die Zerstörung von Trypanosomen auf chemotherapeutischem Wege waren schon zahlreiche Versuche bei Tieren angestellt worden, und zwar bei Ratten, Meerschweinchen, Mäusen, Pferden, Ochsen, und neuerdings wurden diese Versuche auch auf den Menschen ausgedehnt.

Man ist zunächst dabei nach fünf verschiedenen Methoden vorgegangen, und zwar wurden nacheinander erprobt: 1. die Immunisation, 2. das Arsen, 3. Farbstoffe (Trypanrot, Triphenylmethan usw.), 4. das Atoxyl und 5. die kombinierte Behandlung. Jm Jahre 1907 trat dann noch der Tartarus stibiatus in die Reihe dieser Mittel, und zwar meistens in Kombination mit Atoxyl, das sich als besonders wirksam auf diesem Gebiete erwiesen hatte, wie aus allen den Berichten von Kopke, Koch, Broden et Rodhain, Daniel, van Campenhout, Breinl und Zodol, Martin, Firket, sowie von Thiroux, Anfreville usw. hervorgeht.

Wenn diese Wirkung auch keine dauernde ist, es treten nach 7—9 Tagen gewöhnlich Rezidive auf, so hält Morgenroth den Antimon doch für das wirksamste der bis jetzt bekannten Präparate und stellt ihn sogar auf eine höhere Stufe als das Arsen.

Bei der Ratte haben auch Plimmer und Thomson mit Tartarus stibiatus, ferner auch mit Kalium tartaricum und Natrium tartaricum Versuche an-

gestellt. Die Trypanosomen verschwanden binnen einer halben bis einer Stunde aus dem Blute ohne Rückfall. Die Behandlungsweise war folgende:

Intravenöse Injektionen in Dosen von 0,35—0,5 ccm mit einer 1 % Lösung, dreimal hintereinander im Zwischenraum von einigen Tagen, dann einen Monat lang einmal wöchentlich eine Injektion. Beachtenswert ist, daß die geheilten Ratten nicht immun waren.

Mesnil und Brimont haben, ebenso wie die vorgenannten Autoren, die vorzügliche Wirkung des Brechweinsteins erkannt. Sie benutzten bei mit Trypanosoma Gambiense infizierten Mäusen und Ratten gewöhnlichen Brechweinstein in Dosen von 0,3—0,35 auf 20 g pro Tier mit dem Erfolge, daß die Trypanosomen innerhalb von zwei Stunden aus dem Blute verschwanden.

Die Experimente von Thomson und Cushney bestätigen diese Wirkung. Hier handelt es sich um das bereits von Broden und Rodhain angewandte Natrium sulfantimoniatum ([NaS] ^{3}Sbs) oder Schlippesalz. Die genannten englischen Autoren haben daneben auch das weinsteinsaure Salz von Antimon, das bessere Resultate geben soll, benutzt. Die Trypanosomen verschwanden in noch nicht zwei Stunden, und zwar in zahlreichen Fällen endgültig.

Gleich günstige Erfolge erzielte Laveran mit Stibium-anilinum tartaricum bei Meerschweinchen.

Brechweinstein in Kombination mit Arsen und Anilin, von demselben Autor angewandt, hat sich als viel weniger wirksam und als weit reizender erwiesen. Bei 4—5maliger Injektion mit Brechweinstein-Anilin erreichte Laveran bei Meerschweinchen Heilungen unter Anwendung von Dosen von 2,3 gegenüber 1,5 gewöhnlichem Brechweinstein.

Von Holmes sind an Pferden ähnliche Versuche angestellt worden. Es gelang ihm mit Surra infizierte Ponys mehrere Wochen lang ohne Rückfall durch eine kombinierte Behandlung mit Atoxylbrechweinstein zu erhalten.

Bei Rindern haben ferner Broden und Rodhain Heilerfolge mit den Kalium- und Natriumsalzen des Brechweinsteins erzielt, die sie auf intravenösem und subkutanem Wege in der Maximaldosis von 0,006 pro Kilo anwandten.

Nach diesen zahlreichen Tierversuchen ging man dazu über, Antimonpräparate auch bei der Schlafkrankheit des Menschen zu verwenden.

Zuerst haben Manson, Broden und Rodhain, Kerandal Brechweinstein bei der Behandlung schlafkranker Menschen erprobt.

Manson empfiehlt Tartarus stibiatus natronat. in Verbindung mit Atoxyl. Er verwirft subkutane Injektionen als weniger praktisch und empfiehlt, das Medikament in einer genügenden Menge Wasser aufgelöst trinken zu lassen.

Für die intravenöse Injektion eignet sich nach Ansicht von Thiroux Anilin-Brechweinstein besser als der gewöhnliche Kalium-Brechweinstein.

Dieser Autor gibt binnen 24 Stunden eine Dosis von 0,1 Kalium-Brechweinstein in die Kubitalvene ohne irgendwelche Schädigungen für den Patienten und erreicht damit, daß die Trypanosomen innerhalb kurzer Zeit aus den Zervikaldrüsen verschwinden.

Thiroux hat intravenöse Injektionen von 0,15 bis 0,2 und 0,3 geben können. Beim Überschreiten der Dosis von 0,1 beobachtete Th. in manchen Fällen beginnende Intoxikationserscheinungen (Erbrechen). Er rät deshalb, bei schwächlichen Patienten nicht über 0,1 hinausgehen.

Seine Behandlung besteht in einer Kombination von Tartarus stibiatus mit Atoxyl nach folgendem Schema:

1. Tag 0,5 Atoxyl,
2. Tag 0,1—0,2 Brechweinstein,
3. Tag Ruhe,
4. Tag 0,1—0,2 Brechweinstein,
5. Tag 0,5 Atoxyl usw. bis der Kranke 5 Dosen Atoxyl und 10 Dosen Brechweinstein erhalten hat, im ganzen also 2—4 g Brechweinstein und 5 g Atoxyl innerhalb 48 Tagen.

Thiroux hat durch diese Behandlungsweise erreicht, daß die Trypanosomen im Blute mehrerer Kranker für die Dauer von mehreren Monaten verschwanden.

Auch bei der Filariosa hatte Thiroux Resultate erzielt, deren Veröffentlichung von Interesse war. Es gelang ihm bei zwei Kranken die Zahl der Filarien so zu vermindern, daß die Wirkung des Brechweinsteins als zweifellos erscheint.

Martin, der sich am meisten mit der Frage der Wirkung des Brechweinsteins auf Trypanosomiasis beschäftigt hat, empfiehlt im Verein mit Darré eine ganz ähnliche Methode.

Auch diese Autoren verbinden Tartarus stibiatus und Atoxyl, geben aber täglich eine Injektion von 0,1 Brechweinstein und nur alle 5 Tage eine Injektion von 0,5 Atoxyl. Je nach der Empfindichkeit des Kranken kann man nach ihrer Meinung 17 Tage lang täglich 0,1 g intravenös geben.

Die angewandte Lösung besteht aus Kalium-Brechweinstein zu 1 pro Mille in einer 0,7 %igen Kochsalzlösung. In 10 ccm Lösung ist 0,01 Brechweinstein enthalten. Man injiziert 100 ccm = 0,1 pro Dosis.

Die Behandlung besteht aus drei Perioden zu je 15 Injektionen. Zwischen der ersten und zweiten liegen 3, zwischen der zweiten und dritten 6 Wochen. Es empfiehlt sich, vorsichtig mit kleinen Dosen (0,9 = 90 ccm) zu beginnen, da die ersten Injektionen oft schlecht vertragen werden.

Von Nebenerscheinungen bei diesen Injektionen wurden Krampfhusten, Kongestionen, mitunter sogar vorübergehendes Exanthem beobachtet. Doch schwanden alle diese Symptome sofort nach Aussetzen der Injektionen. Nach 4—5 Injektionen zeigt sich häufig eine deutliche Herabsetzung des Blutdruckes, doch ist diese Erscheinung nur eine vorübergehende und verhindert die weitere Anwendung des Mittels in keiner Weise.

In einer Anmerkung zu seiner oben erwähnten Arbeit berichtet Martin von Kranken, die gegen das Heilmittel besonders empfindlich waren. Unter anderen erwähnt er als Folgeerscheinungen der Injektion Schmerzen in der Schulter und Schlaflosigkeit. Er empfiehlt in solchen Fällen, die Behandlung für 48 Stunden auszusetzen. —

Im Dezember 1908 stellte Salmon Versuche mit „Stibine“ und Verbindungen von Antimon mit Anilin bei Syphilis an, ähnlich wie bei Atoxyl.

Die Versuche Salmons mit Tartarus stibiatus an Affen erweisen, daß die Dosen mit 0,01 pro Kilo hinlänglich giftig sein

müssen, um eine Preventivwirkung zu erzielen, und daß bis nahe an die toxische Dosis (0,01 pro Kilo) herangegangen werden muß.

Die mit Anilin kombinierten Antimonpräparate erwiesen sich als stark toxisch, während zwei Stibine — Derivate des Triaethyl-Stibins — sowohl intravenös als intramuskulär ohne irgendwelche Nebenerscheinungen vertragen wurden. Mit Tartarus stibiatus hat dieser Autor folgende Tierversuche angestellt: er hat denselben vier Affen am fünften Tage nach der Inokulation mit Syphilismaterial in zweitägigen Zwischenräumen intravenös einverleibt. Er gab jedem Tier sechs Infusionen, die nach seiner Mitteilung zu einer erfolgreichen prophylaktischen Behandlung genügt haben.

Salmon — ebenso wie Martin — sahen auch bei der Behandlung von Luetikern der verschiedenen Stadien mit Brechweinstein gute Erfolge insofern, als die sichtbaren Krankheitserscheinungen „oft" gut beeinflußt wurden.

Auch von Broden und Rodhain wurde 1908 der Brechweinstein bei der Syphilis angewandt.

Zwei Neger mit papulösen Syphiliden wurden binnen 10 Tagen täglich mit 0,10 Brechweinstein intravenös injiziert. Am 6. Tage wurde ein Rückgang des Syphilids bemerkt; zwei Tage nach Abschluß der Behandlung war völlige Abheilung eingetreten.

Zusammenfassend ergibt sich daß

1. bei Tieren wie bei Menschen Antimon in bestimmten Dosen intravenös und subkutan verabfolgt, ohne bedenkliche Nebenerscheinungen vertragen wird, und daß durch Behandlung mit demselben keinerlei Schädigungen des Organismus verursacht werden,

2. die Wirkung dieser Antimonpräparate ziemlich wechselnd, jedoch sehr oft außerordentlich groß ist:

a) Bei Trypanosomerkrankungen wurde manchmal vollkommene Heilung erreicht;

b) bei Filariaerkrankungen kann eine gewisse Beeinflussung zweifellos beobachtet werden;

c) bei Syphilis endlich haben Broden und Rodhain die in verhältnismäßig kurzer Zeit eingetretene Beeinflussung von luetischen Erscheinungen durch Antimon beobachtet;

d) bei Recurrens versagte das Mittel völlig (Ehrlich).

Die Gesamtheit der oben angeführten Tatsachen ließ es notwendig erscheinen, die Wirksamkeit der Sb-Präparate auf die Syphilis noch weiter experimentell zu studieren.

Auf Anregung von Herrn Geheimrat Neißer habe ich daher Versuche angestellt, über welche ich im Nachfolgenden kurz berichte.

Eigene Versuche:

Zu den Versuchen wurden Kaninchen verwandt, die sich leicht syphilitisch infizieren lassen und gleichzeitig genügende Widerstandsfähigkeit gegen die Behandlung (Injektionen auf intravenösem Wege) besitzen.

Für die Infektion der Kaninchen mit Syphilis kommen zwei Infektionsmethoden in Frage:

1. Die von Hensel schon im Jahre 1881 versuchte, von Bertarelli schließlich praktisch angewandte Infektion der Cornea und 2. die Infektion der Hoden resp. des Scrotums, zuerst von Parodi und Neisser angewandt, später von E. Hoffmann, in Gemeinschaft mit Löhe und Mulzer, Ruffi und Ossola, Brückner und Galaseseo, Meninzescu, besonders von Tomascewski, Uhlenhouth und Mulzer systematisch ausgearbeitet.

Bei ihren Impfungen bringen Uhlenhuth und Mulzer Saugserum aus syphilitischem Material in die Hodensubstanz oder in die Skrotalhaut, oder sie bringen mittels eines Troikart, tierisches Gewebe in die Hodensubstanz.

Tomasczewski empfiehlt folgende Impfmethode, die in einer außerordentlich großen Anzahl von Fällen ein positives Resultat mit einer relativ kurzen Inkubationszeit ergibt (8—14 Tage) als die beste:

Er drückt den Kaninchenboden aus der Bauchhöhle vor den Leistenring. Im Hoden wird mit einer Impfpinzette ein kleiner Hautschnitt gemacht, von da aus schiebt man in eine lange Tasche Kaninchen- oder Menschenmaterial. Die auf diese Weise entstehenden Erscheinungen entsprechen den oben beschriebenen.

Diese Hodenimpfungsmethode Tomasczewskis habe ich bei meinen Versuchen angewandt. Man kann so häufige Untersuchungen vornehmen, ohne daß die Entwicklung des Primäraffektes gestört wird. Punktiert man mit einer ausgeglühten Nadel die Infiltration des Primäraffektes am Rande, so erhält man einen Tropfen Serum; wird dieser mit einem Tropfen NaCl auf den Objektträger aufgetragen, so findet man im Dunkelfeld Spirochäten. — In zweifelhaften Fällen wurde die Silbermethode Levaditis zu Hilfe gezogen. Wo beide Methoden nicht genügten, wurden gesunde Tiere mit dem suspekten Material infiziert.

A. Toxizitätsprüfung.

Bevor zu den eigentlichen therapeutischen Versuchen an infizierten Tieren geschritten werden konnte, mußte die Toxizität der in Betracht kommenden Präparate für gesunde Kaninchen festgestellt werden, und zwar wurden folgende drei bisher meist verwendete und,

was ihre toxische Wirkung für Kaninchen anbetrifft, sich vollkommen ziemlich gleich verhaltende Präparate auf ihre Toxizität geprüft:

1. Tartarus stibiatus kalin.
2. Tartarus stibiatus natr.
3. Stibium-anilinum tartaricum (Merck-Berichte 1909) (tartrate d'antimonylaniline) $C^6H^5AzH^2C^4H^4(SCO)O^6$.

Außer Versuchen per os, rectum und intramuskulär wurden auch intravenöse Wege gewählt.

Tauben vertrugen intramuskuläre Injektionen von Tart. stibiat. kal. in Höhe von 0,015 1%iger Lösung pro Kilo. Die nach mehreren Tagen vorgenommene Sektion ließ bei den Tieren, die eine ziemlich heftige Entzündung überstanden hatten, nekrotische Stellen an den Injektionsstellen erkennen.

Mit einer Lösung von 2 pro Mille erzielte man fast die gleichen Resultate.

Was die Versuche an Kaninchen betrifft, so ergaben sie folgende Resultate:

a) Per os war die Anwendung einer Lösung (80 ccm 1‰) indifferent. Wieviel absorbiert wird ist ungewiß.

b) Rektaler Weg: Die Tiere vertrugen etwa 80 ccm (= 0,05 pro Kilo) ohne katarrhalische und Vergiftungserscheinungen.

c) Intravenöser Weg: Es ließen sich zwischen 0,01 und 0,015 pro Kilo in einer Lösung von 1:1000 ohne Schmerzen und tödlich verlaufende Intoxikation der Tiere injizieren. Versucht wurden Lösungen von 1:2000; sie werden zwar gut vertragen, aber die Menge ist für Injektionen zu groß, besonders wenn die Injektionen wiederholt werden müssen.

Gleich gut werden Lösungen von 1:1000, 1:500 und 1:100 vertragen.

Die Tabelle A enthält eine Auswahl der betreffenden Versuche mit intravenöser Injektion.

Nun war noch die Frage, in welchen Zwischenräumen darf behandelt werden, um eine kumulative toxische Wirkung auszuschalten, zu erledigen.

In der Tabelle B ist die zur Beantwortung dieser Frage angestellte Versuchsreihe leicht ersichtlich. Das Resultat der Versuche ist kurz zusammengefaßt folgendes: eine Dosis von 0,01 in einer Lösung 1:1000 (ich bezeichne sie mit der Zahl 1 und 3/4 davon) werden, wenn sie jeden dritten Tag verabfolgt werden, gut vertragen. Jede Behandlung, bei welcher

diese Pausen zwischen den einzelnen Injektionen kleiner sind, ist für die Tiere von deletärer Wirkung. Auch wenn mit der Dosis auf die Hälfte herabgegangen wird, sind kürzere Pausen zwischen den Injektionen unangebracht.

A. Tabelle der Toxitätsversuche mit Brechweinstein
(intravenöse Injektion).
Lösung 1 : 1000

Tier-Nr.	Gewicht des Tieres in g	Menge des Mittels pro Kilo des Tieres	Gesamtmenge des Mittels	Menge der injizierten Flüssigkeit	
1	2350	0,005	0,0117	11,7 ccm	gesund geblieben
2	2600	0,0075	0,0195	19,5 „	„ „
3	1900	0,01	0,019	19 „	tot nach 30 Tagen
4	2350	0,01	0,023	23 „	gesund geblieben
5	1650	0,01	0,0165	16,5 „	„ „
6	1750	0,015	0,0175	17,5 „	„ „
7	1700	0,015	0,025	25 „	tot nach 18 Stunden
8	1770	0,017	0,0265	26,5 „	„ „ 13 „
9	2000	0,02	0,035	35 „	„ „ 28 „
10	2060	0,025	0,04	40 „	„ „ 12 „
11	2150	0,05	0,0536	53,5 „	„ „ 8 „
12	2000	—	0,1	100 „	„ „ 4 „
			Lösung 1 : 500		
13	1650	0,0075	0,0124	6,2 ccm	gesund geblieben
14	1700	0,01	0,0170	8,5 „	„ „
15	1650	0,011	0,0181	9,1 „	„ „
16	1700	0,012	0,0204	10,2 „	tot nach 36 Stunden
17	1800	0,013	0,0234	11,7 „	gesund
18	1950	0,014	0,0273	13,7 „	tot nach 5 Tagen
			Lösung 1 : 100		
19	1650	0,0075	0,012	1,2 ccm	gesund
20	1700	0,01	0,017	1,7 „	„
21	1700	0,015	0,025	2,5 „	tot nach 5 Stunden
22	1800	0,025	0,041	4 „	„ „ 10 „
23	1800	0,05	0,08	8 „	„ „ 3 „
24	2000	0,1	0,20	20 „	„ „ 1/2 „

Endlich wurde versucht, mit der Dosis in bestimmten Zwischenräumen allmählich zu steigen, und zwar wurden die Tiere jeden 3. Tag mit immer um 1/2 steigenden Dosen behandelt. Die größte Dosis war 1 1/2 = 0,015 pro Kilo Tier. Nach etwa 10 Tagen waren zwei Tiere noch völlig gesund.

B. Übersicht des Einflusses der Länge der Zwischenräume auf die Wirkung des Brechweinsteins usw.

Dosis[1])	3/4	1	1	1	1	3/4	3/4	3/4	1/2	Steigende Dosen		
1. Tag	3/4	1	1	1	1	3/4	3/4	3/4	1/2	1/2	1/2	1/2
2. „	—	—	—	—	1	—	—	—	1/2	—	—	—
3. „	—	—	—	—	—	3/4	3/4	3/4	1/2	—	—	—
4. „	3/4	1	1	1	—	—	—	—	1/2	1	1	1
5. „	—	—	—	—	—	3/4	3/4	3/4	1/2	—	—	—
6. „	—	—	—	—	—	—	—	—	1/2	—	—	—
7. „	3/4	1	1	1	—	3/4	3/4	3/4	1/2	1 1/2	1 1/2	1 1/2
8. „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Tartar. stibiat. kalin.	Tart. stibiat. natron.	Stibiat. anilin. tartar.
9. „	—	—	—	—	—	—	3/4	3/4	—			
10. „	3/4	—	1	1	—	—	—	—	—			
11. „	—	—	—	—	—	—	—	3/4	—			
12. „	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
13. „	3/4	—	—	1	—	—	—	3/4	—			
14. „	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
15. „	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
Verlauf:	gesund	gesund	gesund	gesund	tot am 4. Tag	tot	tot	sehr schwach	tot	gesund[2])	gesund[2])	tot

Hinzugefügt sei noch, daß an keinem der Tiere Lähmungserscheinung beobachtet worden ist.

Obige Versuchsreihen erlauben uns, die Schlüsse zu ziehen, daß:

1. die Dosis von 0,1 pro Kilo auf intravenösem Wege injiziert, hinsichtlich ihrer Toxizität gut vertragen wird,

2. sicherlich bis zu 5 Injektionen à 0,01 gemacht werden können,

3. zwischen zwei Injektionen mindestens zwei Tage liegen müssen.

B. Heilversuche.

Die zu den Versuchen verwandten Tiere wurden meist auf beiden Hoden inokuliert. (Diese Methode erleichterte die Kontrolle der Anwesenheit von Pallidae.) Ferner wurden die Tiere erst nach Entwicklung von Primäraffekten, die keine Neigung zur rapiden Rück-

[1]) 1 Dosis = 0,01 Tart. stibiat. kalin.

[2]) Die Tiere blieben ein bis zwei Wochen gesund und sind dann zugrunde gegangen.

bildung zeigten, und, nach Auffinden zahlreicher Spirochäten (++) am Einstich, behandelt. Diese Methode ist auch von Hata empfohlen worden.

Die Untersuchungen auf Pallidae wurden noch mehrere Tage lang fortgesetzt, nachdem das Resultat schon einmal negativ geworden war. Nach der klinischen Abheilung wurden die Untersuchungen mitunter noch weiterhin alle drei bis vier Tage angestellt. —

Ich lasse nun einige Protokolle der behandelten Tiere folgen; was die unbehandelten Kontrolltiere betrifft, so sind die Beobachtungen an ihnen so oft schon publiziert worden, daß ich wohl auf die Publikation meiner Beobachtungen verzichten kann.

Versuchsprotokolle.

I. Tartarus stibiatus kalinus.

1) 4. 5. 11. Infiziert am rechten Hoden.

27. 6. Rechts großer Primäraffekt, $1^1/_2$ cm breit, 2 cm lang, mit vielen Spirochäten, Gewicht 2240 g, intravenöse Injektion von 0,015 pro Kilo (tödliche Dosis). Tier stirbt kaum 24 Stunden nach der Injektion. Im Dunkelfeld sind keine Spirochäten zu finden, aber die Ausquetschung sowie die Levaditifärbung lassen noch spärliche Spirochäten entdecken. —

2) 4. 5. Infiziert an beiden Hoden.

10. 6. Beiderseits harter Schanker, etwa $1^1/_2$ cm groß, mit starker Infiltration und zahlreichen Spirochäten. Gewicht 2750 g. Erste Injektion von 0,01 pro Kilo, intravenös.

11. 6. Zweite Injektion derselben Dosis. Tier verendet 12 Stunden nach der zweiten Injektion. Bei Ausquetschung des exzidierten Primäraffekts sehr spärliche und unbewegliche Spirochäten. Levaditifärbung positiv. —

3) 8. 9. Infiziert auf beiden Seiten.

2. 11. Links suspekte haselnußgroße Infiltration.

13. 11. Links 2 cm großer infiltrierter Primäraffekt; rechts kleiner, stark infiltrierter Schanker; in beiden zahlreiche Spirochäten.

29. 11. Rechts und links Primäraffekt sehr vergrößert.

1. 12. Rechts sehr ausgebreitete und stark infiltrierte Periorchitis mit vielen sehr beweglichen Spirochäten.

5. 12. Exzision des rechten Hodens zur weiteren Inokulation.

6. 12. Gewicht 1950 g. Erste Injektion von 0,01 pro Kilo.

8. 12. Zweite Injektion derselben Dosis.

9. 12. Spirochäten sehr wenig lebhaft und spärlich.

17. 12. Der Schanker bildet sich zurück, bleibt jedoch noch ganz typisch. Er mißt $1^1/_2$ auf 2 cm und ist mit einer dicken Kruste bedeckt.

22. 1. 12. Exitus, links ganzer Hoden angegriffen, von tumorartigem Aussehen; Oberfläche stark nässend mit beweglichen Spirochäten; rechts

knotige Narbe. Sektion: Beginnende fette Degeneration der Leber. —

4) 8. 8. 11. Infiziert beiderseits.

26. 8. Beiderseits beginnender Schanker.

20. 9. Rechts und links 1 : 1$^1/_2$ cm großer Schanker mit reichlichen Spirochäten.

28. 9. Links Exzision eines Primäraffektstückes zur histologischen Untersuchung[1]).

2. 10. Exzisionswunde geheilt.

3. 10. In den Hoden zahlreiche Spirochäten, Primäraffekte wenig vergrößert. Gewicht 2800 g. Eine Injektion: 0,01 Kilogramm, intravenös.

6. 10. Schanker unverändert, spärliche bewegliche Spirochäten.

9. 10. Rechts Exzision eines Schankerstückes zur histologischen Untersuchung.

29. 11. Schanker links mehr infiltriert, rechts beginnende Heilung.

6. 12. An Lungenseuche verendet. Sektion: Pulmonalabszesse. —

5) 21. 9. Infiziert an beiden Hoden.

24. 10. Beiderseits beginnender Schanker; Spirochäten sehr nachweisbar.

2. 11. Primäraffekt beiderseits, 2 : 2 cm groß.

26. 11. Schanker größer, mehr infiltriert mit zahlreichen Spirochäten. Gewicht 2200 g. — 0,01 pro Kilogramm, intravenös injiziert.

27. 11. Zustand unverändert.

28. 11. Links Schanker unverändert, wenig Spirochäten, wenig beweglich. Rechts unverändert mit spärlichen und unbeweglichen Spirochäten.

29. 11. Gewicht 2160 g. Zweite Injektion derselben Dosis.

30. 11. Schanker unverändert, links wenig unbewegliche Spirochäten, rechts noch ziemlich gut bewegliche Spirochäten.

2. 12. Gewicht 2000 g. Dritte Injektion.

3. 12. Spirochäten beiderseits unbeweglich.

29. 11. Gewicht 2160 g. Zweite Injektion derselben Dosis.

7. 12. Links Schanker wenig infiltriert, wenig unbewegliche Pallidae. Rechts Schanker wenig infiltriert, wenig Pallidae, ebenfalls unbeweglich.

10. 12. Links Schanker ganz weich und im Rückgang begriffen. Pallidae spärlich, wenig beweglich. Rechts wird die Induration wieder stärker. Pallidae zahlreich, sehr beweglich.

13. 12. Beiderseits Pallidae ziemlich zahlreich, sehr beweglich, Schanker unverändert.

14. 12. Links Schanker fast abgeheilt, Kruste. Rechts weniger infiltriert. Beiderseits Pallidae, zahlreich, sehr beweglich.

6) 9. 7. 11. Infiziert an beiden Seiten.

10. 8. Erbsengroße Infiltration rechts, beginnendes Geschwür links mit dünner Kruste.

11. 9. 2 : 2$^1/_2$ cm großer Primäraffekt, hartes Infiltrat rechts, dicke Kruste links — die Punktion ergibt lebhafte Spirochäten. Gewicht 2600 g. Erste Injektion von 0,01 pro Kilogramm, intravenös.

---

[1]) Die Resultate der mikroskopischen Untersuchung des ausgeschnittenen P. A. sollen an anderer Stelle dargestellt werden.

12\. 9. Unveränderter Zustand. Wenig bewegliche Spirochäten.
13\. 9. Stark abnehmende Infiltration des Primäraffektes, Erweichung, die Kruste löst sich mit leichter Eiterung, keine Spirochäten im Dunkelfeld.
14\. 9. Kruste fast abgelöst, Infiltration fast ganz verschwunden. Zweite Injektion.
15\. 9. Primäraffekt desgl. Nach zahlreichen Untersuchungen zwei wenig bewegliche Spirochäten.
17\. 9. P. A. frei von Infiltration, nässendes Geschwür auf $1^1/_2$ cm zurückgegangen. Einige bewegliche Spirochäten (mehrere Untersuchungen). Dritte Injektion.
20\. 9. Primäraffekt unverändert und keine Spirochäten. Die Kruste ist abgefallen und der Primäraffekt noch weiter zurückgegangen.
24\. 9. Schanker 1:1,3 cm. Tendenz zur Heilung, keine Spirochäten.
28\. 9. Schanker heilt ab, noch kleiner, 0,8:1 cm.
2\. 10. Kleine linsengroße Narbe, noch leichte Infiltration.
9\. 10. Verendet. Sektion: Colitis haemorrhagica und beginnende Lungenseuche. —

7) 20. 3. 12. Infiziert am rechten Hoden.
10\. 5. Harter $1:1^1/_2$ cm großer Primäraffekt, Spirochäten zahlreich, sehr beweglich. Gewicht 1880; erste Injektion 0,0075 pro Kilogramm, intravenös.
13\. 5. Schanker weicher, Spirochäten wenig beweglich, zweite Injektion.
16\. 5. Zustand unverändert. Spirochätenbefund negativ. Dritte Injektion.
17\. 5 bis 25. 5. Spirochätenbefund negativ.
26\. 5. Tier verendet an Lungenseuche. Sektion o. B. Exzision des Schankers drei Stunden nach dem Tode, zwei normale Kaninchen weiter geimpft. Bei Levaditifärbung war der Befund positiv. Eines der beiden inokulierten Tiere zeigte nach drei Wochen einen stark mit Spirochäten durchsetzten Primäraffekt.

8) 28. 5. 11. Infiziert am rechten Hoden.
7\. 8. Auf der rechten Seite Schanker, $1^1/_2:2$ cm, hart, infiltriert, zahlreiche Spirochäten. Gewicht 2300 g. Erste Injektion, von 0,0075 pro Kilogramm.
10\. 8. Schanker weicher. Zweite Injektion.
13\. 8. Spirochäten spärlich, unbeweglich. Dritte Injektion.
16\. 8. Primäraffekt sehr weich und deutlich kleiner. Spirochätenbefund negativ. Vierte Injektion.
16\. 8. bis 25. 8. Spirochätenbefund negativ.
26\. 8. Noch eine kleine, nicht infiltrierte Narbe an der Schankerstelle.
22\. 9. Ganz glatt.
16\. 10. Verendet. Sektion: Innere Organe o. B. —

9) 2. 6. 11. Infiziert an beiden Seiten.
7\. 8. Am rechten Hoden hart infiltrierter Primäraffekt, 2 cm groß, mit beginnender Ulzeration, massenhaft Spirochäten. Gewicht 2250 g. Erste Injektion von 0,0075 pro Kilogramm, intravenös.
8\. 8. Das Tier hat Schnupfen und ist sehr schwach.

10. 8. Ulzeration über eine große Fläche des Hodens, Eiter. Spirochäten in großer Menge, beweglich. Zweite Injektion.
13. 8. Schanker sehr weich; spärliche, wenig bewegliche Spirochäten. Dritte Injektion.
16. 8. Die Kruste löst sich ab, viel Spirochäten. Vierte Injektion.
24. 8. Die Infiltrationen sind größer, Kruste abgefallen, Ulcus kleiner, wieder zahlreiche bewegliche Spirochäten. Das Tier ist sehr schwach und kränklich.
5. 9. Tier verendet. Sektion: Ausgedehnte Lungenseuche, Niere etwas ödematös.

10) 28. 9. Infiziert auf beiden Hoden.
26. 11. Beiderseits Primäraffekt, rechts 2 cm, links $1^1/_2$ cm groß; Spirochätenbefund stark positiv, sehr beweglich.
7. 11. Gewicht 1670 g. Erste Injektion von 0,005 pro Kilogramm.
8. 11. Spirochäten sehr beweglich und reichlich.
9. 11. Zweite Injektion.
10. 11. Unveränderter Befund.
11. 11. Zweite Injektion. Gewicht 1600 g. Rechts Spirochäten beweglich, links wenig beweglich.
13. 11. Vierte Injektion. Gewicht 1580 g. Beiderseits Pallidae, wenig beweglich.
14. 11. Kruste geht ab. Rechts sehr wenig Pallidae, sehr wenig beweglich, links Pallidaebefund negativ.
15. 11. Fünfte Injektion. Beiderseits P. A. weicher. Gewicht 1600 g. Keine lebende Pallidae.
17. 11. Sechste Injektion. Gewicht 1550 g.
19. 11. Rechts Schanker weicher, links ganz zurückgegangen. Pallidaebefund negativ.
29. 11. Rechts kleine nässende Stelle, leicht eitriges, narbiges Gewebe. — Links kein P. A., kleine Narbe. Pallidaebefund bleibt negativ.
10. 12. Tier verendet. Lunge etwas ödematös. Eiter in den oberen Atmungswegen: Bronchitis und Peribronchitis. Mikroskopische Untersuchung der Leber: Leichte diffuse, vereinzelte Infiltrationen im Interlobularbindegewebe. Proliferation der Gallengänge (Cirrhosis incipiens?). Niere: o. B.

II. Stibium-anilinum tartaricum.

11) 5. 2. 12. Infektion.
25. 3. Primäraffekt stark induriert mit einer dicken Kruste bedeckt; Pallidae zahlreich und beweglich.
2. 4. Gewicht 2000 g. Injektion von 0,017 pro Kilo, intravenös (tödliche Dosis).
3. 4. Am nächsten Tag verendet. Spirochäten unbeweglich. Zwei Tiere mit dem ausgeschnittenen Primäraffekt geimpft.
6. 5. Eins der geimpften Tieren positiv: Kleiner Knoten am linken Hoden. Punktion: Pallidae zahlreich und beweglich.

12) 30. 7. 11. Infiziert an beiden Hoden.
18. 8. Mit Kruste bedecktes Geschwür links, starke Infiltration.
21. 9. Enorm großer Schanker 3 auf 2 cm, sehr induriert, zahlreiche Pallidae sehr beweglich. Gewicht 2250 g. Eine Injektion von 0,01 g pro Kilo, intravenös.
23. 9. Gewicht 2420 g. Wenig Pallidae, Schanker $2^1/_2$ auf $1^1/_2$ cm groß.
27. 9. Primäraffekt weich, sonst fast unverändert. Gewicht 2300 g. Pallidae zahlreich, sehr beweglich.
2. 10. Noch etwas infiltriert, heilt ab.
5. 10. Primäraffekt heilt ab, 1 auf 1,2 cm groß. Kruste abgefallen, Granulationen. Pallidae noch immer zahlreich, sehr beweglich.
23. 10. Rechts eine ziemlich dicke, sich zusammenziehende Narbe.

13) 2. 8. 11. Infiziert am linken Hoden.
21. 9. Links ein indurierter Schanker, $1^1/_2$ cm groß mit sehr beweglichen Spirochäten. Gewicht 1940 g. Erste Injektion von 0,01 g pro Kilo, intravenös.
23. 9. Zustand unverändert, noch viel wenig bewegliche Pallidae.
24. 9. Gewicht 1950 g. Sehr wenig bewegliche Spirochäten. Zweite Injektion.
27. 9. Gewicht 1850 g. Primäraffekt unverändert, wenig Spirochäten, unbeweglich. Induration dünner und weicher, die Kruste geht ab. Dritte Injektion.
28. 9. Pallidae noch deutlich, aber unbeweglich.
1. 10. Pallidaebefund negativ, seitdem negativ geblieben.
20. 10. Schanker heilt ab, aber noch induriert.
15. 11. Kleine Narbe links, rechts fast glatt.

III. Tartarus stibiatus natronatus.

14) 5. 12. Infiziert am rechten Hoden.
18. 1. 12. Primäraffekt $1^1/_2$ cm, Kruste fest, Pallidae reichlich, beweglich.
14. 2. P. A. 2 cm groß, viele Spirochäten, beweglich.
19. 2. Gewicht 1950 g. Eine Injektion von 0,025 g pro Kilo, intravenös (tödliche Dosis).
20. 2. Pallidae spärlich, unbeweglich. Tier sehr schwach.
21. 2. In der Nacht gestorben, Primäraffekt exzidiert, keine Spirochäten im Dunkelfelde trotz mehrerer Untersuchungen. Sofort drei Tiere geimpft mit dem suspekten Material.
18. 3. Eins der überimpften Tiere verdächtig.
23. 3. Das Tier hat rechts einen Skrotallaffekt, dessen Resultat massenhafte Pallidae ergibt.
15. 4. Riesengroßer Primäraffekt, stark induziert, Spirochätenbefund sehr positiv und beweglich.

15) Das Tier vertrug sechs Injektionen von 0,005 pro Kilo, intravenös. Der Schanker blieb unverändert, die Pallidae immer gleich zahlreich und beweglich.

Auf Grund unserer Versuche kamen wir zu folgenden Schlüssen:

I. Tartarus stibiatus.

1. Durch toxische Dosen, eine tödliche Dosis gleich 0,015 g pro Kilo, werden die Spirochäten so vermindert, daß sie nicht mehr zu entdecken sind, und zwar schon 12 Stunden nach der Injektion.

Nach dem Exitus des Tieres, etwa 24 bis 48 Stunden nach der Injektion, sind noch einige unbewegliche Spirochäten in dem Schankersaft zu finden; nach der Levaditischen Methode sind noch eine große Zahl in den Schnitten zu entdecken.

Bei einer Dosis von 0,01 g, wiederholt nach 24 Stunden (in dieser Weise wird sie tödlich), sind nach dem Tode keine lebende Pallidae zu entdecken, aber die Levaditifärbung bleibt trotzdem positiv. Wenn der Zwischenraum zwischen den zwei Injektionen 48 Stunden beträgt, werden die Spirochäten spärlich und unbeweglich. Bei diesem Zwischenraum kommt es nicht zu letalem Exitus.

2. Bei der größten, noch gut vertragenen Dosis ist es möglich, mit 0,01 g in dreitägigen Zwischenräumen, viermal wiederholt, die Spirochäten zur Immobilisation und zum Verschwinden zu bringen.

Diese Dosis kann es jedoch nicht verhindern, daß die Spirochäten wieder mobil werden und daß ein Rezidiv eintritt.

In dem Fall 5 ist ein Rezidiv fünf Tage nach der letzten Injektion eingetreten: die Spirochäten waren wieder zahlreich und sehr beweglich geworden.

Eine einzige Dosis von 0,01 g wirkt immobilisierend auf die Spirochäten schon am nächsten Tage, und kann dieselben in 48 Stunden zum Schwinden bringen; aber ein Rezidiv kann schon am dritten Tage eintreten.

3. War die Dosis geringer (0,0075 g, 3- bis 4mal in denselben Zwischenräumen wiederholt wie in 2), so sind zwei Fälle von drei untersuchten frei von Spirochäten (untersucht im Dunkelfeld); im dritten ist, nach einer kurzen Immobilisation der Spirochäten, ein Rezidiv eingetreten.

Interessant ist der Fall 7, wo trotz des negativen Untersuchungsresultates im Dunkelfelde der Schanker ansteckend geblieben ist, wie dies durch eine Inokulationsprobe an neuen Tieren festgestellt worden ist.

Die Dosis von 0,005 g, 6mal nacheinander in zweitägigen

Zwischenräumen einverleibt, hat wenig Einfluß auf den Parasiten gezeigt.

II. Stibium anilinum tartaricum.

Eine toxische Dosis (0,017 g pro Kilo) beeinflußt die Beweglichkeit der Spirochäten, aber der Schanker bleibt ansteckend; auf Kaninchen geimpft, hat er einen stark pallidaehaltigen Primäraffekt provoziert.

Die Dosis à 0,01 g hat bei einmaliger Injektion keinen Einfluß auf die Spirochäten, aber dreimal nacheinander in dreitägigen Abständen wiederholt, reduziert sie die Zahl der Spirochäten und macht sie unbeweglich.

III. Mit Tart. stib. natronatum

haben wir bei toxischen Dosen dieselben Resultate erhalten wie mit St. Tart. Anilin.: der Schanker erweist sich trotz Unbeweglichkeit der Parasiten als stark infizierend.

Kleine Dosen des Mittels bleiben ohne irgendwelchen Einfluß auf die Spirochäten.

Das **klinische Bild** ändert sich unter dem Einflusse der Injektionen fortwährend ganz offensichtlich, besonders unter Wirkung des Tartarus stibiatus. Der P. A. wird gewöhnlich schon am dritten bis vierten Tage weicher, zeigt Neigung feucht zu werden, die Kruste löst sich los, er wird flacher und das Infiltrat verschwindet gänzlich.

Treten Rezidive auf, dann wird wieder der P.A. zu einer blutenden Ulceration. Die fast ganz verschwundene Infiltration kann sich wieder zeigen, und zwar viel stärker als zuvor und unter Beteiligung des ganzen Testikels.

Wird der Schanker weniger infiltriert und zeigt er Neigung zur Heilung, dann verschwinden zu gleicher Zeit gewöhnlich die Spirochäten. Wenn das Mittel den Schanker nicht zur Rückbildung führt, dann beeinflußt es auch die Spirochäten nicht.

Die Wirkung der beiden anderen Präparate (Stibium-anilinum tartar. und Tartar. stibiat natron.) scheint keine besseren Resultate zu zeitigen. Demnach scheint es sich hier um eine zwar sichere Wirkung auf das Infiltrat des Schankers, dagegen um eine nur flüchtige auf Spirochäten zu handeln.

IV. Therapeutische Kombination.

Weil der Tartarus stibiatus trotz Verabreichung ziemlich großer Dosen sich wenig wirksam zeigt, habe ich dieses Mittel mit Arsenpräparaten kombiniert, und zwar so, daß die Dosen von beiden Mitteln immer unter der Dosis kurativ blieben. Diese Versuche wurden gerade zu der Zeit begonnen, als man mit dem Ehrlichschen Salvarsan die ersten glänzenden Erfolge erhielt, und so war es natürlich, daß meine ersten Versuche sich auf die Kombination mit diesem Präparat erstreckten.

Zunächst wurden sehr kleine Dosen Salvarsan (0,005) mit 0,007 Tartarus stibiatus pro Kilo kombiniert und mit dieser Kombination bei Kaninchen auch sichere Heilungen erzielt.

Doch konnten diese Versuche nicht als einwandfrei bezeichnet werden, denn der Vorteil, den der Tartarus stibiatus bei der Heilung hatte, war nicht kontrollierbar, weil bekanntlich das Salvarsan schon allein in kleinen Dosen oft einen Heileffekt bei Kaninchen zu erzielen vermag. So griff ich denn zu einem Präparat, dessen Wirkung eine schwächere und daher zu Beobachtungszwecken bequemer war, zu dem Arsenophenylglycin.

Schon Tsuzuki hatte diese Tartarus-Arsenophenylglycin-Kombination bei Schlafkrankheit mit gutem Erfolge versucht.

Auf Grund zahlreicher Tierexperimente kam dieser Autor zum Resultat, daß bei der Behandlung der experimentellen Nagana-Infektion die Kombination mehrerer chemotherapeutischer Substanzen (mit kleinen Mengen der einzelnen Heilmittel) eine wesentlich bessere Heilwirkung ergibt, als durch größere Dosen der einzelnen Komponenten für sich erzielt werden kann. Dabei erweist sich die Kombination chemisch weniger verwandter Gruppen: Arsenophenylglycin, Brechweinstein und Trypanblau als viel günstiger, sowohl in bezug auf den Heileffekt als auch in bezug auf die Giftigkeit, als eine Kombination chemisch verwandter Mittel verschiedene Arsenpräparate).

Ich habe diese Kombination von Tartar. stibiat. kalin. mit Arsenophenylglycin versucht.

Die aus 0,05 Arsenophenylglycin und 0,01 Tartarus stibiatus kombinierte Therapie wird gut vertragen. Die Behandlung wurde mit einer Dosis Arsenophenylglycin begonnen, die nach Hata nicht kurativ wirkt oder wenigstens Rezidive zuläßt. Es wurde schließlich

bis auf 0,01 pro Kilo Arsenophenylglycin plus 0,0075 Tartarus herabgegangen.

Tatar. stibiat. kalin plus arsenophenylglycin.

1) 8. 8. 11. Inokulation (6. Passage).

29. 9. Gut entwickelter Primäraffekt, zahlreiche Pallidae im Dunkelfeld und im Ausstrich nachweisbar. Gewicht 2500 g. Injektion von 0,03 g in einer Lösung 1:250 Arsenophenylglycin und 0,01 g pro Kilo in einer 1:100 Lösung Tartar. stibiat. Kalin.

1. 10. Unveränderter Zustand des P. A., noch einige unbewegliche degenerierte Spirochäten. Gewicht 2370 g.

5. 10. Primäraffekt ganz weich; noch zwei unbewegliche, degenerierte Pallidae; sehr festhaftende und dicke Kruste. Gewicht 2340 g.

6. 10. Der Spirochätenbefund ist negativ.

12. 10. Ganz flacher Schanker, Kruste abgefallen, keine Spirochäten im Dunkelfeld. Gewicht 2500 g.

18. 10. Kleine Narben der Infektionsstelle.

23. 10. Völlig geheilt, glatte Narbe.

24. 11. Immer glatt und geheilt.

10. 12. Verendet an Lungenseuche, die Milz ist vergrößert.

2) 4. 7. 11. Inokulation (6. Passage).

21. 8. Gewicht 1600 g, Schanker, 2 cm groß, mit zahlreichen beweglichen Pallidae. Injektion von 0,03 g Arsenophenylglycin und 0,01 g pro Kilo Stibium-anilinum tartaricum 1:100.

22. 8. Noch viele lebende Spirochäten.

24. 8. Desgleichen.

25. 8. Primäraffekt in Rückbildung und weicher; Spirochätenbefund negativ.

29. 8. Fast keine Infiltration mehr, keine Pallidae.

5. 9. Fast geheilt. Keine Infiltration.

6. 9. Heilung: glatte Narbe. Gewicht des Tieres 1540 g.

10. 9. Verendet. Sektionsbefund: Beginnende Lungenseuche.

3) 8. 8. Inokulation (6. Serie).

29. 9. Gewicht 2270 g, Primäraffekt $1^1/_2$ cm groß, zahlreiche Pallidae. Injektion von 0,02 g Arsenophenylglycin plus 0,01 g pro Kilo Stibium-anilinum tartaricum 1:100.

1. 10. Gewicht 2220 g, Schanker weicher, sehr wenig Spirochäten.

5. 10. Gewicht 2080 g, Kruste fällt mit leichter Eiterung ab. Primäraffekt ganz weich, Spirochätenbefund negativ, Rand sehr feucht.

6. 10. Gewicht 2040 g, keine Spirochäten. Kleine Ulzeration (linsengroß).

12. 10. Gewicht 2400 g. Neigung zur Heilung, Narbe.

23. 10. Völlig geheilt, keine Narbe.

2. 12. Schanker glatt geheilt. Verendet. Sektion: Innere Organe o. B.

4) 8. 8. Inokulation (6. Serie) an beiden Seiten.

3. 10. Schanker mit bohnengroßer Infiltration. Auf beiden Seiten Pallidae sehr zahlreich. Gewicht 2120 g.

6. 10. Links 2:2 cm großer Schanker, reich an Spirochäten, rechts überhäutete Induration (haselnußgroß), die punktiert ein sehr bewegliches, spirochreiches Serum ergibt.

7\. 10. Injektion von 0,02 g Arsenophenylglycin plus 0,0075 Tart. stib. kalin.
8\. 10. Unverändert 2100 g). Punktion der Induration ergibt Pallidae, wenig zahlreich, beweglich. Die des Schankers ergibt reichlich Pallidae, beweglich.
9\. 10. Der Schanker nimmt an Umfang ab, $1:1^1/_2$ cm, ist aber noch immer infiltriert. Die Induration ist ulzeriert, krustös; einige wenige unbewegliche Pallidae.
10\. 10. Primäraffekt noch weicher. Gewicht 2000 g. Pallidaebefund negativ.
12\. 10. Die Induration geht merkbar zurück. Gewicht 2200 g, keine Pallidae.
23\. 10. Verendet. Sektionsbefund: Niere und Leber o. B. Fast geheilter Schanker, kleine Kruste und Eiter. Die Induration ist nicht mehr zu merken.

5) 19. 8. 11. Inokulation auf beiden Seiten (7. Serie).
9\. 10. Großer Schanker an beiden Seiten. Injektion von 0,02 g Arsenophenylglycin plus 0,0075 g pro Kilo Tart. stib. kalin.
10\. 10. Unverändert. Pallidae links sehr spärlich, wenig beweglich. Rechts negativ. Gewicht 1810 g.
11\. 10. Links sehr weich, rechts fast keine Induration. Pallidae negativ. Gewicht 1840 g.
12\. 10. Primäraffekt völlig weich auf beiden Seiten, Pallidae negativ.
22\. 10. Links Kruste abgefallen, keine Infiltration. Rechts Infiltration.
6\. 11. Glatt, Tier gesund.

6) 28. 9. 11. Inokulation an beiden Seiten (7. Serie).
6\. 11. Schanker an beiden Seiten, sehr reich an beweglichen Pallidae. Links 1,5 cm, rechts 1 cm groß.
7\. 11. Injektion mit 0,02 g Arsenophenylglycin plus 0,0075 g Tart. stibiat.
8\. 11. Wenig bewegliche Pallidae an beiden Seiten. Schanker Stat. idem.
9\. 11. Zurückgegangener Schanker. Pallidae wenig zahlreich, unbeweglich und in Auflösung begriffen.
11\. 11. Schanker glatt zurückgegangen, rechts noch unbewegliche seltene Pallidae. Links ein wenig mehr erweicht. Kruste abgefallen.
12\. 11. Schanker in Heilung begriffen, Pallidaebefund negativ.
15\. 11. Idem. Pallidae immer weiter negativ.
29\. 11. Heilung, Narbe.
24\. 1. 12. Verendet.

7) 28. 9. 11. Inokulation (7. Serie).
24\. 10. Auf beiden Seiten beginnender Schanker.
2\. 11. Primäraffekt links 1 cm, rechts $2^1/_2$ cm groß, sehr infiltriert, Pallidae sehr reichlich, sehr beweglich.
18\. 11. Unverändert.
23\. 11. Gewicht 2450 g. Injektion von 0,01 g Arsenophenylglycin plus 0,0075 Tart. stibiat.
27\. 11. Pallidae spärlich, wenig beweglich.
28\. 11. Beiderseits Pallidae negativ. P. A. weicher, kleiner. Kruste fällt ab.
30\. 11. Pallidae negativ, Schanker heilt ab, Infiltration im Rückgang.
19\. 12. Auf beiden Seiten glatt.

24. 1. 12. Desgleichen.
14. 2. Desgleichen.

8) 2. 8. 11. Inokulation (6. Serie), beiderseitig.
21. 9. Gewicht 1940 g, P. A. 2 : $1^1/_2$ cm groß, Spirochäten zahlreich. Injektion von 0,01 g Arsenophenylglycin plus 0,0075 g Tart. stibiat.
22. 9. Gewicht 1750 g, Primäraffekt Stat. idem, Spirochäten (drei Präparate), negativer Befund.
24. 9. Gewicht 1770 g. Unverändert, keine Spirochäten.
28. 9. Gewicht 1650 g. Schanker weich. Die Kruste löst sich ab. Pallidae nicht nachweisbar.
1. 10. Gewicht 1750 g. Kruste abgefallen, Granulationen, Neigung zur Heilung. Pallidaebefund negativ.
5. 10. Gewicht 1790 g. Kruste abgefallen, keine Pallidae.
9. 10. Kleine Narbe.
1. 11. Glatt geheilt.
29. 11. Glatt.

9) 19. 7. 11. Infektion (6. Serie).
21. 9. Auf beiden Seiten etwa $1^1/_2$–2 cm großer Primäraffekt. Injektion mit 0,005 Salvarsan plus 0,0075 Tart. stibiat.
22. 9. Pallidae schwach beweglich.
23. 9. P. A. weicher, rechts kleiner. Pallidae beweglich.
24. 9. Linke Seite unverändert, rechts im Rückgang, noch einige Pallidae, aber unbeweglich.
27. 9. Keine Infiltration. Kruste abgefallen. Noch eine unbewegliche Pallidae in mehreren Präparaten.
1. 10. Schanker kleiner, keine Infiltration, 1 : 0,7 cm groß. Pallidae negativ.
5. 10. Trockene, kleine Narbe beiderseits.
9. 10. Links kleine Narbe, rechts glatt.
23. 10. Beiderseits glatt.
18. 12. Verendet. Lungenseuche. Sektion: o. B. Hoden glatt.

Mit der kombinierten Behandlung von Arsenophenylglycin (in Dosen von 0,03, 0,02 und 0,01) und Tart. stib. (in Dosen von 0,01 und 0,0075) erhalten wir also eine Immobilisation der Spirochäten schon am dritten, manchmal sogar am zweiten Tage der Behandlung. Die Spirochäten schwinden vollkommen vom 3. bis 6. Tage.

Das klinische Bild ändert sich vollkommen: der Schanker wird kleiner und verwandelt sich nach zwei bis drei Wochen in eine vollkommen glatte Narbe. Die Tiere bleiben rezidivfrei. Es scheint, daß die Wirkung des Arsens durch Kombination mit Antimon verstärkt wird.

Literatur.

Laveran, A., De l'efficacité d'un émétique d'arsenic et d'antimoine dans le traitement de différentes trypanosomiases. (C. R. acad. sciences. T. CLI, 26. September 1910, p. 580.)

Derselbe, De l'emploi de l'émétique dans le traitement des tryanosomiases. (C. R. acad. sciences. T. CXLVII, 21. September 1908.)

Derselbe, L'émétique d'aniline dans le traitement des trypanosomiases. (C. R. acad. sciences. T. CXLIX, 27. September 1909, p. 546.)

Derselbe, Traitement des infections produites par le trypanosoma congoleuse et le trypanosoma dimorphon. (Bull. Soc. pathol. exot. T. III, No. 4, 1910.)

Laveran et Thiroux, La thérapeutique des trypanosomiases humaines. (C. R. acad. sciences. 4. XI. 1907.)

Broden und Rodhain, Action de l'émétique sur le trypanosoma angolense. (Bull. Soc. path. exot. T. III, Mai 1910, p. 233.)

Dieselben, Modifications du liquide cephalo rachidien au cours du traitement par l'atoxyl-émétique, etc. . . . (Le névraxe, 1. November 1900, p. 169.)

Dieselben, Traitement de la trypanosomiase humaine, communications préliminaires. (Archiv f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. 1908, Bd. 12, No. 14.)

Dieselben, Emétique et Syphilis. (Archiv f. Schiffs- u. Tropen-Hyg, Mai 1908, p. 505.)

Martin-Lebœuf und Ringenbach, Sur le traitement de la maladie du sommeil par l'émétique d'aniline seul ou associé a l'atoxyl. (Bull. Soc. pathol. exotique. T. III, No. 4, 1910.)

Martin-Lebœuf et Darré, La trypanosomiase chez les blancs. (Bull. Soc. pathol. exot., November 1908.)

Dieselben, Note à la Suite de l'observation précédente. (Ibid. 1908.)

Thomson and Cushney, On the action of antimony conqounds in trypanosomiases Rats. (Proceed. royal. soc. B. T. LXXXII, p. 249.)

Ayres Kopke, Action de l'émétique sur la trypanosomiase. (Archiv de Hyg. et pathol. exot., November 1909.)

Salmon, L'antimoine dans les spirilloses pathogènes. (Bull. soc. pathol. exot. 1908, No. 1, p. 613.)

Mesnil et Brimont, Sur l'action de l'émétique dans les trypanosomiases. (Bull. soc. path. exot. T. I, janvier 1908.)

Dieselben, Sur une race de trypanosomes résistante a l'émétique et sur l'évaluation in vitro de sa résistance. (C. R. soc. biologie . T. LXIV, avril et mai 1908.)

Manson (Patrick), My experience of trypanosomiasis in Europeans and its treatement by atoxyl and other drugs. (C. R. Bull, Pasteur 1908, p. 496.)

Holmes, J. D. E., Etude d'une épidemie de surra équin avec traitement par atoxyl et émétique. (Journ. of trop. veter. Sc. T. III, No. 2, 1908.)

Plimmer and Thomson, Results of the experimental treatment of trypanosomiasis in rats; beeing a progress report of a comittee of the royal society. November 1907. — Further results of the experimental treatment of trypanosomiasis. (Proceed. roy. soc., Bd. 1910, p. 140.)

Thiroux, De l'émétique d'aniline associé à l'atoxyl dans le traitement de la maladie du sommeil. (Bull. soc. path. exot. T. III, mars 1910.)

Derselbe, De l'action de l'émétique d'aniline sur la filariose. (Bull. soc. path. exot. T. III, 1910.)

Browning, C. H., Experimental chemotherapy in trypanosomiasis infections. (British med. journal, novembre 1907.)

Mühlens, P., Trypanosomiasis und ihre Behandlung. (79. Versammlung deutsch. Naturforscher u. Ärzte zu Dresden; Zentralblatt f. Bakter., 1. Abt., Ref., Bd. 40, S. 481.)

Morgenroth und Rosenthal, Wirkung des Antimons bei der experimentellen Trypanosomeninfektion. (Berl. klin. W., Januar 1911.)

Morgenroth, Rosenthal und Halberstädter, Zur Kenntnis der Arzneifestigkeit der Trypanosomen. (Archiv f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1911, Nr. 8, Original.)

Kérandal, I., Un cas de trypanosomiase chez un médecin. (Bull. soc. path. exot. T. III, 1910.)

Tsuzuki, Die Kombinationstherapie der Trypanosomeninfektionen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 48, 1911, Heft 2.)

Cloetta, Untersuchungen über das Verhalten der Antimonpräparate im Körper und die Gewöhnung an dieselben. (Archiv f. exper. Pathol. 1911, S. 352.)

Ehrlich, Beziehungen zwischen Antimon- und Arsenpräparaten. (Berliner Berichte, Bd. 42, H. 11, S. 1.

Levaditi und Knaffl, Mechanismus der Wirkung des Antimons bei Trypanosomenerkrankungen. (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. II, 1909, S. 545.)

Schilling, Cl., Chemotherapeutische Versuche bei Trypanosomeninfektionen. (Archiv f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1909, Bd. XIII.)

Neisser, A., Die experimentelle Syphilisforschung. (Berlin, Springer 1906.)

Derselbe, Beiträge zur Pathologie und Therapie der Syphilis. (Berlin, Springer 1911.)

Ehrlich und Hata, Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen. (Berlin, Springer 1911.)

Hoffmann, E., Die Ätiologie der Syphilis. (Berlin, Springer 1906.)

Levaditi et Roché, La Syphilis. (Paris, Masson 1909.)

Blumenthal, F., Die experimentelle Syphilisforschung.

Aus dem Sero-Bakteriologischen Institut des Städtischen Krankenhauses zu Kobe, Japan.

Experimentelle Untersuchungen über die komplexe Konstitution und Wirkungsweise der Hämolysine von Kaltblüterseris,

sowie einige Beiträge zur Kenntnis der hämolytischen Komplemente und Amboceptoren, insbesondere zur Frage der heterologen Antikörperbildung.

Von

Dr. **T. Amako,**

Direktor des Krankenhauses.

Die Konstitution und Wirkungsweise der Hämolysine von Kaltblüterseris ist bisher noch keineswegs geklärt worden, trotz der umfangreichen Literatur über Serumhämolysine. Die nachstehend mitgeteilten Untersuchungen bringen einige neue Analysen dieser Fragen sowie einen Beitrag über die Bildung der heterologen Antikörper (des hämolytischen Amboceptors und des anaphylaktischen Reaktionskörpers). Der Beschreibung der Resultate dieser Untersuchungen ist folgende Einteilung zugrunde gelegt:

I. Über die komplexe Konstitution der Hämolysine von Kaltblüterseris.
   A. Versuch mit Schildkrötenserum.
   B. Versuch mit Krötenserum.

II. Über den thermischen Einfluß auf die Kaltblüterhämolysine.

III. Über die Wirkungsweise der Kaltblüterhämolysine.

IV. Beiträge zur Kenntnis der hämolytischen Komplemente und Amboceptoren.

V. Zur Frage der heterologen Amboceptorbildung.

I. Studien über die komplexe Konstitution der Hämolysine von Kaltblüterseris.

Die Tatsache, daß Froschserum gegenüber gewissen artfremden Blutkörperchen hämolytische Eigenschaft besitzt, wurde schon von einigen Autoren, wie Friedberger und Seelig[1], Noguchi[2], Lazar[3] und Liefmann[14 u. 15] festgestellt. Friedberger und Seelig berichteten, daß das Froschhämolysin nicht dem Typus der komplexen Hämolysine entspricht, sondern als „echtes Toxin" anzusehen ist, was in Widerspruch zu Lazar und Noguchi steht. Lazar hat die hämolytischen Stoffe des Froschserums als komplexe Hämolysine aufgefaßt. Noguchi nahm an, daß es eine dem Komplement der Warmblüter analoge Substanz sei. Kürzlich hat auch Liefmann mit Froschhämolysin gearbeitet und ausgeführt, daß das Froschhämolysin als komplexes Hämolysin zu gelten habe. Er konnte aber beide Komponenten des Froschhämolysins — Amboceptor und Komplement — nicht mit Klarheit trennen.

Neuerdings habe ich mich auch mit Hämolysinen von Kaltblüterseris beschäftigt, und es gelang mir, mit Sicherheit die Konstitution derselben zu analysieren.

Die Versuche, über die in nachstehendem berichtet wird, wurden mit Schildkröten und Kröten, und zwar in den Wintermonaten, angestellt.

A. Versuch mit Schildkrötenserum.

Über die Hämolysine des Serums der Schildkröten liegen soweit mir bekannt in der Literatur Arbeiten nicht vor. Zu meinen Versuchen wurden japanische Teichschildkröten verwendet. Das Körpergewicht der Schildkröten, von denen Blutserum gewonnen wurde, betrug 200 bis 500 g. Das Serum wurde durch Abzentrifugieren des Blutes gewonnen, das ich durch Abschneiden der Carotis entnahm.

Tabelle I zeigt einen Versuch über die Hämolyse mit einem Schildkrötenserum gegenüber verschiedenen artfremden Blutkörperchen.

Je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung der Blutkörperchen wurde mit fallenden Mengen des Schildkrötenserums gemischt. Durch Zusatz von 0,85 proz. Kochsalzlösung wurde die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens auf 5 ccm aufgefüllt.

Tabelle I.

Nr.	Menge des Schildkröten-serums ccm	Resultat mit			
		Kaninchen-blut	Hammel-blut	Meerschwein-chenblut	Menschen-blut
1	0,5	komplette Hämolyse	komplette Hämolyse	inkomplette Hämolyse	Spur
2	0,4	"	"	geringe Häm.	0
3	0,3	"	"	Spur	0
4	0,2	"	inkomplette Hämolyse	0	0
5	0,1	"	Spur	0	0
6	0,05	inkomplett	"	0	0
7	0,02	Spur	0	0	0
8	0,01	0	0	0	0
9	—	0	0	0	0

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, wirkte das Schildkrötenserum besonders stark hämolytisch auf Kaninchenblutkörperchen, ziemlich stark auf Hammelblutkörperchen, nur sehr gering auf Meerschweinchenblutkörperchen und fast gar nicht auf Menschenblutkörperchen.

1. Versuch zur Trennung von Amboceptor und Komplement des Schildkrötenserums.

Zunächst wurde versucht, den vermuteten Amboceptor des Normalschildkrötenserums zu isolieren. Zum Versuche wurden zwei Methoden angewandt: Die Trennung bei 0° und die bei hypertonischer Salzkonzentration.

a) Versuch bei 0°.

Bekanntlich hatten zunächst Ehrlich und Morgenroth[5] gezeigt, daß Amboceptor von Normal- und Immunhämolysin bei niedriger Temperatur isoliert an Blutkörperchen gebunden wird, während Komplement frei in der Lösung bleibt. Sachs und Bolkowska[6] haben diesen Befund teilweise bestätigt und berichtet, daß bei geringen Amboceptormengen im Sinne von Ehrlich und Morgenroth in der Kälte eine Trennung zwischen Amboceptor und Komplement eintritt, dagegen bei größeren Amboceptormengen in der Kälte das Mittelstück des Komplements isoliert an amboceptorbeladene Blutkörperchen verankert.

Ich habe auch untersucht, ob man mit der Kältetrennungs-

methode den Amboceptor und das Komplement von dem Schildkrötenserum isolieren kann.

Beim Arbeiten prüfte ich zunächst, ob das Schildkrötenserum bei 0° keine Hämolyse erzeugt oder ob bereits bei 0° eine gewisse hämolytische Kraft eintritt, wie man sie im Froschserum bemerkt. Der Versuch wurde in folgender Weise ausgeführt: In drei Parallelreihen (A, B und C) wurden fallende Mengen Schildkrötenserum mit je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen gemischt. Durch Zusatz von 0,85 proz. Kochsalzlösung wurde die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens auf 5 ccm aufgefüllt. Vor dem Zusammenmischen wurden alle drei Reagentien (Blutkörperchenaufschwemmung, Schildkrötenserum und 0,85 proz. Kochsalzlösung) mit Eis abgekühlt. Nach dem Mischen blieb Reihe A weiter in Eis, Reihe B in Zimmertemperatur und Reihe C im Brutofen bei 37° stehen.

Tabelle II.

Hämolyse mit Schildkrötenserum bei verschiedenen Temperaturen

Nr.	Menge des Schildkrötenserum ccm	Resultate (nach 1 Std.) bei		
		Reihe A	Reihe B	Reihe C
1	0,5	komplette Hämolyse	komplette Hämolyse	komplette Hämolyse
2	0,4	„	„	„
3	0,3	inkomplette Hämolyse	„	„
4	0,2	0	„	„
5	0,1	0	„	„
6	0,05	0	nkomplette Hämolyse	inkomplette Hämolyse
7	0,02	0	0	0
8	—	0	0	0

Dieser Versuch zeigt, daß das Schildkrötenserum im Gegensatz zum Warmblüterserum bei 0° stark hämolytisch wirkt. Allerdings war die Wirkung bei 0° langsamer als bei Zimmertemperatur und bei 37°. In zwei Röhrchen von Reihe A (Nr. 4 und 5), welche kleine Serummengen enthielten, war nach 1 Stunde noch keine Hämolyse eingetreten, während die entsprechenden Röhrchen von Reihe B und C komplette Hämolyse zeigten. Aus diesem Grunde

wurden beim nächsten Kältetrennungsversuche kleine Mengen des Schildkrötenserums (1- bis 2fach lösende Dosis) in Anwendung gebracht.

In drei Röhrchen wurden je 1 ccm einer bei 0° abgekühlten 5proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen mit 1-, $1^1/_2$- und 2fach lösender Dosis Schildkrötenserum (0,1, 0,15 und 0,2 ccm) gemischt.

Durch Zusatz von 0,85 proz. Kochsalzlösung füllte ich die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens auf 3 ccm auf. Die Mischungen blieben eine Stunde bei 0° stehen. (Tabelle III.)

Tabelle III.

Nr.	Menge des abgekühlten Schildkrötenserums ccm	5 proz. Kaninchenblut abgekühlt ccm	0,85 proz. Kochsalzlösung abgekühlt ccm	Resultate nach 1 Stunde bei 0°
1	0,2	1,0	1,8	keine Hämolyse
2	0,15	1,0	1,85	"
8	0,1	1,0	1,9	"

Nach 1 Stunde wurden die drei Röhrchen, in denen keine Hämolyse eingetreten war, in den bei 0° abgekühlten Zentrifugengläsern sofort zentrifugiert. Jeder Abguß wurde in zwei gleiche Teile geteilt (Abguß a und b). Die Bodensätze wurden mit einer abgekühlten 0,85 proz. Kochsalzlösung gewaschen, zentrifugiert und dann auch in zwei Teile geteilt (Bodensatz a und b). Mit den Abgüssen und Bodensätzen führte ich in drei Reihen Versuche aus.

In Reihe I wurden Abgüsse a mit Bodensätzen b der entsprechenden Röhrchen digeriert.

In Reihe II wurden je 0,5 ccm einer 5proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen mit jedem Abguß b digeriert.

In Reihe III wurden die Bodensätze b in 0,85proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Durch Zusatz von 0,85proz. Kochsalzlösung wurde die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens der drei Reihen auf 2,5 ccm aufgefüllt.

Zum Verständnis der Tabelle IV müssen besonders die Reihen I und II beachtet werden. Sie enthalten die Abgüsse des Schildkrötenserums, welches bei 0° mit Kaninchenblutkörperchen digeriert war, unterscheiden sich aber dadurch, daß die Einwirkung

Tabelle IV.

Nr.	Menge des Schildkrötenserums, welches bei der Vorbehandlung der Blutkörperchen verwandt wurde	Resultat nach 2 Stunden bei Zimmertemperatur		
		Reihe I	Reihe II	Reihe III
1	0,2 ccm	komplette Hämolyse	geringe Hämolyse	0
2	0,15 „	„	0	0
3	0,1 „	„	0	0

in Reihe I auf die bei 0° mit Schildkrötenserum vorbehandelten Kaninchenblutkörperchen erfolgte, in Reihe II dagegen auf die nativen Kaninchenblutkörperchen. Wenn Amboceptor in der Kälte an Blutkörperchen nicht gebunden würde, so müßte naturgemäß in beiden Reihen die Hämolyse in gleichem Grade eintreten. Hier differieren aber die Reihen I und II ganz deutlich insofern, als Reihe I komplette Hämolyse zeigt, während Reihe II fast ungelöst geblieben ist. Die Reihe III zeigt keine Hämolyse.

Aus diesem Versuche ergibt sich zunächst, daß das **Hämolysin von Schildkrötenserum aus zwei Komponenten (Amboceptor und Komplement) besteht, und in der Kälte eine Komponente, der Amboceptor, isoliert an Blutkörperchen gebunden wird, während die andere Komponente, das Komplement, in der Lösung bleibt.** Röhrchen I von Reihe II zeigte aber eine geringe Hämolyse, dagegen blieben Röhrchen 2 und 3 von derselben Reihe vollkommen ungelöst. Dies kann aber dadurch erklärt werden, daß bei Digerieren der Blutkörperchen mit 2fach lösender Dosis vom Schildkrötenserum Spuren von Amboceptor noch ungebunden in der Lösung blieben, während bei Digerieren von Blutkörperchen mit $1^1/_2$fach und 1fach lösender Dosis des Serums der Amboceptor vollkommen an Blutkörperchen gebunden wird und nur das Komplement frei in der Lösung bleibt.

Um den Nachweis zu erbringen, daß eine in den Abgüssen frei bleibende Komponente des Schildkrötenhämolysins sicherlich das Komplement ist, habe ich unter Anwendung von inaktiviertem Schildkrötenserum folgenden Versuch angestellt.

Die Inaktivierung des Schildkrötenhämolysins geschah durch halbstündige Erwärmung bei 54° (s. Tabelle XXXIV).

Tabelle V.

Nr.	Inaktiviertes Schildkröten-serum	Abguß	Kaninchenblut-körperchen 5 Proz.	0,85 prozent. Kochsalz-lösung	Resultat
	ccm	ccm	ccm	ccm	
1	0,5	3,0	1,0	0,5	komplette Hämolyse
2	0,4	3,0	1,0	0,6	„
3	0,3	3,0	1,0	0,7	„
4	0,2	3,0	1,0	0,8	„
5	0,1	3,0	1,0	0,9	„
6	0,05	3,0	1,0	0,95	inkomplette Hämolyse
7	1,0	—	1,0	3,0	0
8	0,5	—	1,0	3,5	0
9	—	4,0	1,0	—	spur
10	—	3,0	1,0	1,0	0
11	3 ccm Abguß + 1 ccm Sediment (5 proz.) + 1 ccm 0,85 proz. Kochsalzlösung.				komplette Hämolyse
12	1 ccm Sediment (5 proz.) + 4 ccm 0,85proz. Kochsalz-lösung.				0

Um die zum Versuche nötige Menge des Abgusses zu erhalten, wurden 10 ccm 5proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen mit 1,5 ccm frischem Schildkrötenserum und 18,5 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung gemischt. (Vor der Mischung waren diese drei Reagentien bei 0° abgekühlt worden.) Die Mischung wurde 1 Stunde lang bei 0° belassen und dann zentrifugiert. Das Sediment wurde gewaschen und in 10 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Abguß: amboceptorfreies Komplement in einer Verdünnung 1:20. Sediment: sensibilisierte Blutkörperchen.

Der Versuch zeigte mit Sicherheit, daß die im Abguß verbliebene Komponente des Schildkrötenhämolysins Komplement war.

Sodann versuchte ich, in anderer Weise den Amboceptor des Schildkrötenhämolysins so zu entfernen, daß das unverdünnte Schildkrötenserum mit unverdünnten Kaninchenblutkörperchen bei 0° digerierte. Da das Schildkrötenserum beim Digerieren mit kleinen Mengen Blutkörperchen bei 0° auch komplette Hämolyse erzeugte, so wurden im folgenden Versuche verhältnismäßig große Mengen der Blutkörperchen in Anwendung gebracht.

In einem in Eis stehenden Zentrifugenglas wurden 3 ccm bei 0° abgekühlten Schildkrötenserums mit 1,5 ccm ebenfalls bei 0° ab-

gekühlten Kaninchenblutkörperchen (unverdünnt) 1 Stunde lang bei 0° digeriert und dann zentrifugiert.

Das in dieser Weise 1- bis 2mal mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° vorbehandelte Schildkrötenserum zeigte eine hochrote Farbe und enthielt keinen nachweisbaren Amboceptor mehr, während das Komplement noch in einem gewissen Grade in demselben blieb (siehe Tabelle VI).

Tabelle VI.

Nr.	Menge des mit Kaninchenblut bei 0° vorbehandelten Schildkrötenserums ccm	Resultat nach 2 Stunden bei 20° C.		
		Reihe I	Reihe II	Kontrolle: natives Schildkrötenserum und gewöhnliche Kaninchenblutkörperchen
1	0,4	komplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse
2	0,3	„	0	„
3	0,2	inkomplette Hämolyse	0	„
4	0,1	0	0	„
5	—	0	0	„

In Reihe I wurden je 1 ccm einer 5proz. Aufschwemmung von den sensibilisierten Kaninchenblutkörperchen (siehe Tabelle V) mit fallenden Mengen von einem mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° vorbehandelten Schildkrötenserum digeriert.

In Reihe II wurde je 1 ccm einer 5proz. Aufschwemmung von den gewöhnlichen Blutkörperchen mit fallenden Mengen von einem mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° vorbehandelten Schildkrötenserum digeriert. Durch Zusatz einer 0,85proz. Kochsalzlösung wurde die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens auf 5 ccm aufgefüllt.

Es ergibt sich aus diesem Versuche, daß man durch die angewandte Methode auch amboceptorfreies Schildkrötenkomplement erhalten kann, dessen Wirkung eine etwas schwächere ist.

Mit dem in dieser Weise erhaltenen Schildkrötenkomplement wurde auch unter Anwendung des bei 54° inaktivierten Serums folgender Versuch ausgeführt.

Tabelle VII.

Nr.	Menge des bei 0° mit Kaninchenblut vorbehandelten Schildkrötenserums ccm	Bei 54° 30 Minuten erhitztes Schildkrötenserums ccm	5% Kaninchenblutkörperchen ccm	Resultat (2 Stunden bei 20° C)
1	0,4	0,2	1,0	komplette Hämolyse
2	0,3	0,2	1,0	"
3	0,2	0,2	1,0	fast komplette Hämolyse
4	0,1	0,2	1,0	inkomplette Hämolyse
5	0,05	0,2	1,0	mäßige Hämolyse
6	0,4	—	1,0	0
7	—	0,4	1,0	0

Der Versuch bestätigte ganz genau das Ergebnis des Versuches in Tabelle VI, nämlich, daß das in beschriebener Weise mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° vorbehandelte Serum ein durch Erwärmung inaktiviertes Serum komplettieren kann.

b) Versuch zur Trennung von Amboceptor und Komplement des Schildkrötenserums in hypertonischer Kochsalzlösung.

Wie schon Ehrlich und Morgenroth[5], Marks[4], Hekton und Rüdiger[7] zeigten, findet auch die Bindung des Amboceptors in hypertonischer Salzlösung statt, während das Komplement ungebunden in der Lösung bleibt. Ich versuchte nun, ob auch Schildkrötenhämolysin in hypertonischer Kochsalzlösung sich spalten läßt.

Die Versuche wurden zunächst in 4 Reihen mit einer hypertonischen Kochsalzlösung (17proz.) ausgeführt.

Reihe I enthielt je 0,1 ccm 17 proz. NaCl-Lösung
" II " " 0,2 " 17 " " "
" III " " 0,3 " 17 " " "
" IV " " 0,4 " 17 " " "

Den einzelnen Röhrchen jeder Reihe wurden je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen und fallenden Mengen von Schildkrötenserum zugesetzt und durch Zusatz von physio-

logischer Kochsalzlösung wurde die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens auf 2 ccm aufgefüllt (siehe Tabelle VIII).

Tabelle VIII.

Nr.	Menge des Schildkrötenserums ccm	Resultat bei Reihe I	II	III	IV	Kontrolle
1	0,4	komplette Hämolyse	inkomplette Hämolyse	inkomplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse
2	0,3	"	"	0	0	"
3	0,2	inkomplette Hämolyse	"	0	0	"
4	0,1	"	0	0	0	"
5	0,05	0	0	0	0	inkomplette Hämolyse

Das Schildkrötenserum wird, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, ebenso wie das Serum der warmblütigen Tiere durch höhere Salzkonzentration in seiner hämolytischen Wirkung gehemmt. In den Röhrchen der Reihe IV, denen je 0,4 ccm einer 17proz. hypertonischen Kochsalzlösung zugesetzt wurden, zeigte sich keine Hämolyse. Die Röhrchen von Reihe IV wurden zentrifugiert. Jedes Sediment wurde mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und in 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, jede Aufschwemmung wurde endlich in drei Teile geteilt (Sediment a, b und c).

In Reihe A wurden die Sedimente a mit je 1 ccm eines amboceptorfreien Schildkrötenkomplements in einer Verdünnung von 1:20 (siehe Tabelle V) digeriert.

In Reihe B wurden die Sedimente b mit je 1 ccm Endstück (1:11) von Schildkrötenkomplement (siehe Tabelle XV) digeriert.

In Reihe C wurden die Sedimente c mit je 1 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung digeriert. (Siehe Tabelle IX.)

Aus diesem Versuche ist zu ersehen, daß der Amboceptor von Schildkrötenhämolysin auch in hypertonischer Kochsalzlösung an Blutkörperchen gebunden wird. Beim Zusatz von großen Mengen des Serums binden kleine Teile des Mittelstücks auch, (Reihe B, Röhrchen 1 und 2), bei Zusatz kleiner Mengen jedoch nicht (Röhrchen 3, 4 und 5).

Tabelle IX.

Nr.	Menge des Schildkrötenserums, welches bei der Vorbehandlung der Blutkörperchen benutzt wurde ccm	Resultat bei Reihe		
		A	B	C
1	0,4	komplette Hämolyse	sehr starke Hämolyse	0
2	0,3	"	gering	0
3	0,2	"	0	0
4	0,1	"	0	0
5	0,05	inkomplette Hämolyse	0	0

Die Abgüsse der Reihe IV der Tabelle VIII wurden auch in folgender Weise untersucht. Sie wurden durch Zusatz von je 7 ccm destilliertem Wasser isotonisch gemacht und ein jeder Abguß in 2 gleiche Teile geteilt (Abgüsse a und b).

In Reihe A wurden die Abgüsse a mit je 0,5 ccm 5proz. Aufschwemmung von sensibilisierten Blutkörperchen (siehe Tabelle V) digeriert.

In Reihe B wurden die Abgüsse b mit je 0,5 ccm 5proz. Aufschwemmung von gewöhnlichen Blutkörperchen digeriert.

Tabelle X.

Nr.	Menge des Schildkrötenserums, das in hypertonischer Salzlösung mit den Blutkörperchen digeriert worden war	Resultat	
		A	B
1	0,4 ccm	komplette Hämolyse	komplette Hämolyse
2	0,3 "	"	inkomplette Hämolyse
3	0,2 "	"	0
4	0,1 "	"	0
5	0,05 "	"	0

Es ergibt sich aus diesem Versuche, daß bei Digerieren von Blutkörperchen mit den größeren Mengen des Schildkrötenserums in hypertonischer Salzkonzentration Reste der Amboceptoren und große Mengen Komplement noch ungebunden in den Abgüssen bleiben, während bei Digerieren mit den kleinen Mengen des Schild-

krötenserums (Röhrchen 3 und 4) sämtliche Amboceptoren an Blutkörperchen gebunden werden und nur das Komplement ungebunden frei in der Lösung bleibt.

Ein noch schöneres Resultat habe ich im folgenden Versuche erhalten, bei dem ein durch Zusatz von Kochsalz hypertonisch gemachtes Serum (unverdünnt) 1- bis 2mal mit einem unverdünnten Kaninchenblutkörperchen digeriert wurde. Um zu diesem Zwecke eine passende Dosis von Kochsalz, welches dem Serum zugesetzt wird, zu finden, habe ich bestimmten Mengen des Serums verschiedene Quanten von Kochsalz hinzugefügt und darauf das Serum mit Blutkörperchen gemischt. Nach einer Stunde (bei Zimmertemperatur) wurde jede Mischung zentrifugiert (siehe Tabelle XI).

Tabelle XIa.

Nr.	Menge des Schildkrötenserums ccm	Zum Serum gesetzte Dosis des Kochsalzes	Kaninchenblutkörperchen (unverdünnt) ccm	Nach 1 Std. (bei Zimmertemperatur) zentrifugiert
1	2,0	0,051 g (d. h. 0,017 × 3)	1,0	geringe Hämolyse, Abguß färbte sich mäßig
2	2,0	0,068 g (d. h. 0,017 × 4)	1,0	Spur Hämolyse, Abguß färbte sich wenig
3	2,0	0,085 g (d. h. 0,017 × 5)	1,0	keine Hämolyse, Abguß färbte sich gar nicht
4	2,0	—	1,0	sehr starke Hämolyse

Bei diesem Versuche wurde natürlich Natrium chlorat. purissimum verwandt, die Abwägung geschah aufs genaueste mittels einer chemischen Wage.

Aus der Tabelle geht hervor, daß das Röhrchen 3 keine Hämolyse zeigte, infolgedessen war im Abguß keine Färbung eingetreten. Die Röhrchen 1 und 2 dagegen wiesen geringe Hämolysen auf und die Abgüsse derselben hatten eine mäßig rötliche Färbung.

Die so erhaltenen Abgüsse (d. h. unverdünntes Serum) wurden durch Zusatz von destilliertem Wasser isotonisch gemacht, wie folgt:

1) 2,0 ccm Abguß von Röhrchen 1 + 6 ccm H_2O,
2) " " " " " 2 + 8 " "
3) " " " " " 3 + 10 " " .

Die in dieser Weise isotonisch gemachten Sera wurden mit einem sensibilisierten Blutkörperchen einerseits und mit gewöhnlichen Blutkörperchen anderseits digeriert, und zwar:

in Reihe I wurden je 1 ccm sensibilisierter Blutkörperchen (5proz.) mit den fallenden Mengen der Sera digeriert,

in Reihe II wurden je 1 ccm gewöhnlicher Blutkörperchen (5proz.) mit fallenden Mengen von den Seris digeriert.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.

Die sensibilisierten Blutkörperchen und das amboceptorfreie Komplement wurden in derselben Weise wie in der Tabelle V gewonnen.

Tabelle XIb.

Nr.	Menge des Serums (Abguß) ccm	Resultat (nach 2 Std. bei 20° C) mit Abguß von						Kontrolle: natives Serum + gewöhnliche Kaninchenblutkörperchen
		Röhrchen 1		Röhrchen 2		Röhrchen 3		
		I	II	I	II	I	II	
1	0,4	komplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse
2	0,2	"	0	"	0	"	0	"
3	0,1	inkompl. Hämolyse	0	fast kompl. Hämolyse	0	"	0	"
4	0,05	"	0	inkompl. Hämolyse	0	fast kompl. Hämolyse	0	fast komplette Hämolyse

Es ergibt sich aus diesem Versuche, daß die Sera auf die sensibilisierten Blutkörperchen stark hämolytisch wirkten, während sie auf die gewöhnlichen Blutkörperchen keine Wirkung ausübten. Im Abguß von Röhrchen 3 (zugesetzte Kochsalzdosis: 0,085) in welchem sich keine Hämolyse zeigte, war das Komplement fast vollkommen frei geblieben, während in den Abgüssen von Röhrchen 1 und 2, in welchen geringe Hämolyse eingetreten war, das Komplement wenig abnahm. Hieraus geht hervor, daß der Zusatz von 0,085 g reinem Kochsalz zu 2 ccm Schildkrötenserum zur Gewinnung des amboceptorfreien Komplements am geeignetsten war.

Als ich aber ein mit kleiner Menge Kochsalz vermischtes Schildkrötenserum mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° digerierte, trat keine Hämolyse mehr ein. In diesem Falle wurde Amboceptor auch an Blutkörperchen gebunden und nur das Komplement blieb frei im Serum, wie folgender Versuch erkennen läßt:

Tabelle XIIa.

Nr.	Abgekühltes Schildkrötenserum ccm	Zum Serum zugesetzte Kochsalzdosis	Abgekühlte Kaninchenblutkörperchen (unverdünnt) ccm	1 Std. bei 0° und dann zentrifugiert
1	2,0	0,017 g	1,0	Spur-Hämolyse, Abguß: gering rot
2	2,0	0,034 g (d. h. 0,017 × 2)	1,0	keine Hämolyse, Abguß: farblos
3	2,0	0,051 g (d. h. 0,017 × 3)	1,0	"
4	2,0	—	1,0	starke Hämolyse, Abguß stark rot gefärbt

Es wurden die mit kleiner Kochsalzdosis vermischten Sera in obenbezeichneter Weise 1- bis 2mal mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° vorbehandelt. Die Sera (Abgüsse) wurden durch Zusatz von destilliertem Wasser isotonisch gemacht, wie folgt:

1) 2,0 ccm Abguß von Röhrchen 1 + 2,0 ccm H_2O
2) " " " " " 2 + 4,0 " "
3) " " " " " 3 + 6,0 " "
4) " " " " " 4 + — " "

Unter Anwendung von gewöhnlichen und sensibilisierten Blutkörperchen wurden die Abgüsse auf ihre hämolytische Wirkung geprüft.

Reihe I: je 1 ccm sensibilisierter Blutkörperchen + fallende Mengen der Abgüsse.

Reihe II: je 1 ccm gewöhnlicher Blutkörperchen (5proz.) und fallende Mengen der Abgüsse.

Tabelle XIIb.

Nr.	Menge des Serums (Abguß) ccm	Resultat (nach 3 Std. bei 20°) mit Abguß von								Kontrolle: natives Serum + gewöhnliche Blutkörperchen
		Röhrchen 1		Röhrchen 2		Röhrchen 3		Röhrchen 4		
		I	II	I	II	I	II	I	II	
1	0,4	komplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse
2	0,2	"	0	"	0	"	0	fast kompl.	0	"
3	0,1	"	0	"	0	"	0	inkompl.	0	"
4	0,05	inkompl.	0	inkompl.	0	fastkompl.	0	"	0	fast komplett

Aus diesem Versuche geht hervor, daß die Abgüsse von allen 4 Röhrchen nur auf die sensibilisierten Blutkörperchen stark lösend wirkten, während sie auf die gewöhnlichen Blutkörperchen keine Wirkung erzeugten. Der Abguß von Röhrchen 4 zeigte eine schwächere Komplementwirkung als die Abgüsse der andern drei Röhrchen, in denen das Komplement fast vollkommen zurückblieb.

Im folgenden wurden die Sera, welche analog der Versuche in Tabellen XIa und XIIa behandelt wurden, unter Anwendung eines durch Erhitzung inaktivierten Serums auf ihre Komplementwirkung geprüft.

Tabelle XIII.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.

Nr.	Inaktiviertes Schildkrötenserum	Menge des zu prüfenden Serums	Kaninchenblutkörperchen	Resultat bei Abgüssen von						
				Tabelle XI			Tabelle XII			
	ccm	ccm	ccm	1	2	3	1	2	3	4
1	0,2	0,4	1,0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
2	0,2	0,2	1,0	„	„	„	„	„	„	i.k.
3	0,2	0,1	1,0	i.k.	i.k.	„	„	„	„	„
4	0,2	0,05	1,0	0	0	i.k.	i.k.	i.k.	i.k.	0
5	0,4	—	1 0	0	0	0	0	0	0	0
6	—	0,4	1,0	0	0	0	0	0	0	0

Anm.: k. = komplette Hämolyse; i k. = inkomplette Hämolyse; 0 = keine Hämolyse.

Der Versuch zeigte eine genaue Bestätigung der Resultate laut Tabelle XI und XII.

Ferner wurde noch untersucht, ob die Sedimente (Blutkörperchen) der einzelnen Röhrchen von Tabellen XIa und XIIa auch gut sensibilisiert waren. (Tabelle XIV siehe S. 239.)

Der Versuch zeigte, daß die Sedimente von Tabellen XI und XII, die mit gesalzenen Schildkrötenseris eine Stunde lang bei Zimmertemperatur sowie bei 0° digeriert worden waren, ebensogut durch Zusatz von Schildkrötenkomplement aufgelöst wurden, wie die sensibilisierten Blutkörperchen. Daraus kann wohl der Schluß gezogen werden, daß die geprüften Blutkörperchen alle gut sensibilisiert waren.

Tabelle XIV.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.
Die Ziffern 1, 2 und 3 bedeuten die Nummern der Röhrchen der einzelnen Tabelle.
Hämolyse nach 2 Stunden bei 20° C.
Das Komplement wurde in derselben Weise wie in der Tabelle V gewonnen.

Nr.	Menge des Komplements 1 : 20	Resultate mit Sedimenten von						Kontrolle	
		Tabelle XI			Tabelle XII			sensibilisierte Blutkörperchen (Tabelle V) + Komplement	gewöhnliche Blutkörperchen + Komplement
	ccm	1	2	3	1	2	3		
1	3,0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	0
2	2,0	"	"	"	"	"	"	"	0
3	1,0	i.k.	i.k.	i.k.	i.k.	i.k.	i.k.	i.k.	0
4	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0
5	—	0	0	0	0	0	0	0	0

2. Über die komplexe Konstitution des Schildkrötenkomplements.

Es wurde zunächst untersucht, ob das Schildkrötenkomplement aus 2 Komponenten, Endstück und Mittelstück, besteht, wie es beim Komplement von Warmblütern der Fall ist.

Die zur Spaltung des Schildkrötenkomplements verwandte Methode war im wesentlichen die gleiche, wie sie bei der Spaltung des Warmblüterkomplements zumeist in Anwendung gebracht worden ist, d. h. Spaltung

1. durch verdünnte Salzsäure nach Sachs und Altmann[8],
2. durch Einleitung von CO_2 nach Liefmann[13],
3. durch Dialyse nach Ferrata[9].

a) Die Spaltung des Schildkrötenkomplements durch verdünnte Salzsäure.

Das Komplement wurde in derselben Weise gewonnen, wie bei der Tabelle XII:

2 ccm eines mit 0,017 g Kochsalz zugesetzten Schildkrötenserums (bei 0° abgekühlt), dem 0,017 gr Kochsalz zugesetzt war, 1 ccm abgekühlter Kaninchenblutkörperchen (unverdünnt).

1 Stunde lang bei 0°, dann zentrifugiert.

1 ccm Abguß, der keinen wirksamen Amboceptor mehr ent-

hielt, wurde durch Zusatz von 1 ccm destillierten Wassers isotonisch gemacht. Darauf wurden 8,2 ccm $\frac{1}{250}$ bis $\frac{1}{200}$ normaler Salzsäure zugesetzt, dann wurde das Röhrchen eine Stunde lang bei Zimmertemperatur belassen und endlich zentrifugiert. Der Abguß (Endstück) wurde filtriert (durch Filtrierpapier), dann durch Zusatz von 0,8 ccm 10 proz. Kochsalzlösung, welche $\frac{1}{25}$ bis $\frac{1}{20}$ normaler Natronlauge enthielt, neutralisiert und isotonisch gemacht. Die so erhaltene Flüssigkeit entsprach 11facher Verdünnung eines Endstücks. Das Sediment (Mittelstück) wurde in 2 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung aufgelöst (d. h. 2fache Verdünnung eines Mittelstücks).

In der Tabelle XV führe ich einen Versuch mit einem gutgespaltenen Komplement an.

Tabelle XV.
Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 2,5 ccm.

Nr.	sensibilisierte Blutkörperchen ccm	Mittelstück 1:2 ccm	Endstück 1:11 ccm	0,85 proz. Kochsalzlösung ccm	Resultat nach 3 Std. bei 20° C.
1	0,5	0,4	1,5	0,1	komplette Hämolyse
2	0,5	0,3	1,5	0,2	„ „
3	0,5	0,2	1,5	0,3	inkompl. Hämolyse
4	0,5	0,1	1,5	0,4	wenige „
5	0,5	0,5	—	1,5	0
6	0,5	0,4	—	1,6	0
7	0,5	—	2,0	—	Spur
8	0,5	—	1,5	0,5	0
9	0,5	—	—	2,0	0

Dieser Versuch zeigt mit Sicherheit, daß das Schildkrötenkomplement, wie das der warmblütigen Tiere aus 2 Komponenten, nämlich Mittelstück und Endstück, besteht, die beide durch verdünnte Salzsäure getrennt werden können.

b) Spaltung des Schildkrötenkomplements durch Einleitung von CO_2.

Als Komplement wurde hierbei auch ein mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° vorbehandeltes Schildkrötenserum verwendet, dem

eine kleine Dosis Kochsalz zugesetzt war (2 ccm Schildkrötenserum + 0,017 g NaCl), wie bei Tabelle XII.

2 ccm des in dieser Weise vorbehandelten Serums, welches keinen nachweisbaren Amboceptor mehr enthielt, wurde durch Zusatz von 2 ccm destilliertem Wasser isotonisch gemacht. Dazu setzte ich noch 16 ccm destilliertes Wasser. Die Einleitung des Kohlensäuregases wurde bei 15° eine halbe bis eine ganze Stunde lang vorgenommen. Der durch Zentrifugieren erhaltene Abguß wurde filtriert und durch Zusatz von 0,136 g Kochsalz isotonisch gemacht. Die in dieser Weise erhaltene Flüssigkeit entsprach einer 10fachen Verdünnung eines Endstücks. Das Sediment wurde mit einer 0,85 proz. Kochsalzlösung auf 1:2 aufgelöst.

Tabelle XVI.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 2,5 ccm.

Nr.	Sensibilisierte Blutkörperchen (5 proz.) ccm	Mittelstück 1:2 ccm	Endstück 1:10 ccm	0,85 proz. Kochsalzlösung ccm	Resultat nach 3 Std. bei 20° C.
1	0,5	0,4	1,5	0,1	komplette Hämolyse
2	0,5	0,3	1,5	0,2	fast kompl. "
3	0,5	0,2	1,5	0,3	inkompl. "
4	0,5	0,1	1,5	0,4	geringe "
5	0,5	0,5	—	0,5	0
6	0,5	0,4	—	1,0	0
7	0,5	—	2,0	—	0
8	0,5	—	1,5	0,5	0
9	0,5	—	—	2,0	0

Die Tabelle zeigt, daß die Spaltung des Schildkrötenkomplements mit CO_2 recht gut gelingt.

c) Spaltung des Schildkrötenkomplements durch Dialyse.

Es wurden Schildkrötenkomplemente, die in gleicher Weise wie bei den Tabellen XI und XII gewonnen waren, durch Dialyse in zwei Komponenten gespaltet. Zur Dialyse wurden Fischblasenkondom und Diffusionshülsen von Schleicher und Schüll in Anwendung gebracht. Da aber das Leitungswasser der Stadt Kobe wegen seines

Salzgehalts für Dialyse nicht geeignet war, so habe ich das Komplement zunächst gegen fließendes Leitungswasser und dann 3 bis 5 Stunden gegen mehrfach gewechseltes, destilliertes Wasser dialysiert. Bei zu langem Dialysieren gegen destilliertes Wasser fiel neben dem Mittelstück auch ein Teil vom Endstück aus, so daß das Mittelstück allein auf die sensibilisierten Blutkörperchen lösend wirkte.

Eine recht schöne Spaltung des Schildkrötenkomplements erreichte ich auch durch Dialyse. Die Tabelle, die den Versuch mit den so erhaltenen zwei Komponenten des Komplements enthält, entspricht fast ganz den Tabellen XV und XVI, ihre Wiedergabe erscheint hier demnach überflüssig.

Aus den obigen in den verschiedensten Weisen ausgeführten Versuchen kann wohl geschlossen werden, daß das Schildkrötenserum Hämolysin enthält, welches nicht dem Typus des echten Toxins im Sinne von Friedberger und Seelig entspricht, sondern als komplexes Hämolysin, das, wie die Hämolysine von warmblütigen Tieren, aus drei Komponenten, nämlich Amboceptor, Mittelstück und Endstück, besteht, anzusehen ist.

B. Versuche mit Krötenserum.

Nachdem ich die Konstitution des Schildkrötenhämolysins festgestellt hatte, versuchte ich weiter, auch die Konstitution von Froschhämolysin in gleicher Weise zu erforschen. Bei den Versuchen wurden japanische Erdkröten im Winterschlaf verwendet. Das Körpergewicht der Kröten betrug 50 bis 200 g. Die Sera dieser Kröten wirkten auch auf Kaninchenblut besonders stark, auf Menschenblut ziemlich stark, auf Meerschweinchenblut nur recht gering und auf Hammelblut gar nicht hämolytisch, wie folgende Tabelle dartut. (Tabelle XVII siehe S. 243.)

1. Versuch zur Trennung von Amboceptor und Komplement des Krötenserums.

Das Serum von Erdkröten wirkte auch bereits bei 0° hämolytisch, wie die Sera von anderen Froscharten. Tabelle XVIII zeigt einen Versuch, der mit einem Krötenserum bei 0°, Zimmertemperatur und 37° ausgeführt wurde.

Tabelle XVII.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.
Hämolyse nach 2 Stunden bei Zimmertemperatur.

Nr.	Menge des Krötenserums ccm	Kaninchenblut	Menschenblut	Hammelblut	Meerschweinchenblut
1	0,5	komplette Hämolyse	komplette Hämolyse	0	inkomplette Hämolyse
2	0,4	„	„	0	mäßige Hämolyse
3	0,3	„	„	0	0
4	0,2	„	inkomplette Hämolyse	0	0
5	0,1	„	0	0	0
6	0,05	mäßige Hämolyse	0	0	0
7	—	0	0	0	0

Tabelle XVIII.

Der Versuch wurde in derselben Weise wie in der Tabelle II ausgeführt.
Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 8 ccm.

Nr.	Menge des Krötenserums ccm	Hämolyse nach 1 Stunde bei		
		Reihe A (0°)	Reihe B (Zimmertemperat.)	Reihe C (37°)
1	0,5	komplett	komplett	komplett
2	0,4	inkomplett	„	„
3	0,3	stark	„	„
4	0,25	0	„	„
5	0,2	0	„	fast komplett
6	0,15	0	„	mäßig
7	0,1	0	„	Spur
8	0,05	0	mäßig	0
9	—	0	0	0

Nach vorstehender Tabelle war das Krötenserum bereits bei 0° in Mengen von 0,3 bis 0,5 ccm stark hämolytisch im Gegensatz zum Warmblüterserum. Vergleicht man Reihe B (Zimmertemperatur) und C (37°), so ergibt sich als Resultat zwischen beiden der merkliche Unterschied, daß bei Zimmertemperatur in einer Menge von 0,1 bis 0,5 ccm komplette Hämolyse eintrat, während sich bei 37° eine solche nur in einer Menge von 0,3 bis 0,5 ccm zeigte. Das Krötenhämolysin wird also bereits bei 37° in seiner Wirkung geschädigt.

Bei meinen Kältetrennungsversuchen brachte ich auch kleine Mengen des Krötenserums (0,1 bis 0,25 ccm) in Anwendung, die bei 0° nach 1 Stunde keine Hämolyse erzeugten.

a) Spaltung des Krötenhämolysins bei 0°.

Die Versuchsanordnung gestaltete sich, wie in der Tabelle III, so, daß drei bei 0° abgekühlte Reagentien, nämlich Krötenserum, Kaninchenblutkörperchen und 0,85proz. Kochsalzlösung, zusammengemischt und die Mischungen eine Stunde lang bei 0° gelassen wurden.

Tabelle XIX.

Nr.	Menge des abgekühlten Krötenserums ccm	Abgekühlte Kaninchenblutkörperchen ccm	Abgekühlte 0,85 proz. Kochsalzlösung ccm	1 Stunde bei 0°
1	0,25	1,0	1,75	gering gelöst
2	0,20	1,0	1,8	0
3	0,15	1,0	1,85	0

Nach einer Stunde (bei 0°) wurden die drei Mischungen zentrifugiert. Jeder Abguß wurde in zwei gleiche Teile geteilt (Abgüsse a und b). Der Bodensatz jeder Mischung wurde mit einer bei 0° abgekühlten 0,85proz. Kochsalzlösung gewaschen und dann in je 2 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, jede Mischung wurde endlich auch in zwei Teile geteilt (Bodensätze a und b).

Reihe I: Abgüsse a + Bodensätze a von entsprechenden Röhrchen.

Reihe II: Abgüsse b + je 0,5 ccm 5proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen.

Reihe III: Bodensätze b + 0,85proz. Kochsalzlösung.

Durch Zusatz von 0,85proz. Kochsalzlösung wurde die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens auf 2,5 ccm aufgefüllt.

Tabelle XX.
Hämolyse nach 2 Stunden bei 20°.

Nr.	Menge des Krötenserums, welches bei Vorbehandlung d. Blutkörperchen benutzt worden war ccm	Resultat bei		
		Reihe I	Reihe II	Reihe III
1	0,25	komplette Hämolyse	geringe Hämolyse	0
2	0,2	„	0	0
3	0,15	„	0	0

Das Resultat des Versuches war genau dasselbe wie bei dem mit Schildkrötenserum ausgeführten Versuche. In Reihe I zeigte jedes Röhrchen komplette Hämolyse. In Reihe III blieb dagegen die Hämolyse ganz aus. Was nun Reihe II anbelangt, so zeigte das Röhrchen 1, in welchem eine $2^1/_2$fach lösende Dosis des Krötenhämolysins enthalten war, nur eine geringe Hämolyse, während Röhrchen 2 und 3, in denen 2- und $1^1/_2$fach lösende Dosis des Krötenhämolysins enthalten war, keine Hämolyse aufwiesen.

Aus diesem Versuche geht also hervor, daß bei Digerieren von Kaninchenblutkörperchen mit $2^1/_2$fach lösender Dosis von Krötenserum Spuren von Amboceptor noch ungebunden in der Lösung geblieben waren, während bei Digerieren der Blutkörperchen mit $1^1/_2$- bis 2fach lösender Dosis des Serums der Amboceptor vollkommen an die Blutkörperchen gebunden wird und nur das Komplement frei in der Lösung bleibt.

Bei weiteren Versuchen wurden die in dieser Weise erhaltenen sensibilisierten Blutkörperchen und amboceptorfreie Komplemente in Anwendung gebracht, und zwar wurden sie meist, wie folgende Tabelle zeigt, hergestellt.

Tabelle XXI.

Abgekühlte Kaninchenblutkörperchen (5 proz.)	10,0 ccm
Abgekühltes Krötenserum	2,0 „
Abgekühlte 0,85 proz. Kochsalzlösung . . .	18,0 „

Die Mischung blieb 1 Stunde bei 0° stehen, darauf wurde sie zentrifugiert. Der Abguß = amboceptorfreies Komplement 1:15 verdünnt. Bodensatz, der einmal mit einer abgekühlten 0,85 proz. Kochsalzlösung gewaschen wurde = sensibilisierte Blutkörperchen.

Unter Anwendung von einem durch Erwärmen inaktivierten Krötenserum wurde der Abguß auf seine Komplementwirkung geprüft. Das Krötenserum wurde durch halbstündiges Erwärmen auf 44° C inaktiviert (siehe Tabelle XXXV).

Der Versuch zeigt, daß eine im Abguß bleibende Komponente des Krötenhämolysins sicher Komplement ist.

Durch Digerieren des unverdünnten Krötenserums bei 0° mit Kaninchenblutkörperchen war auch amboceptorfreies Komplement zu erhalten, ähnlich wie beim Schildkrötenserum.

Tabelle XXII.

Nr.	Inaktiviertes Krötenserum ccm	Abguß ccm	Kaninchenblutkörperchen (5%) ccm	0,85 proz. Kochsalzlösung ccm	Resultat nach 2 Stunden bei 20° C.
1	0,4	3,0	1,0	0,6	komplette Hämolyse
2	0,2	3,0	1,0	0,8	"
3	0,1	3,0	1,0	0,9	"
4	0,05	3,0	1,0	0,95	inkomplette Hämolyse
5	0,2	1,5	1,0	2,3	komplette Hämolyse
6	0,2	0,5	1,0	3,3	inkomplette Hämolyse
7	0,8	—	1,0	3,2	0
8	0,4	—	1,0	3,6	0
9	—	4,0	1,0	—	0
10	—	3,0	1,0	1,0	0
11	3 ccm Abguß + 1 ccm Sediment (5%) + 1 ccm 0,85 proz. Kochsalzlösung				komplette Hämolyse
12	1 ccm Sediment (5%) + 4 ccm 0,85 proz. Kochsalzlösung				0

1 ccm eines bei 0° abgekühlten unverdünnten Krötenserums wurde mit 1,0 ccm abgekühlter, unverdünnter Kaninchenblutkörperchen eine Stunde lang bei 0° digeriert und dann zentrifugiert. Das so erhaltene Serum zeigte jedoch eine hochrote Farbe. Mit den von mir geprüften Krötenseris konnte ich meist durch einmalige (sehr selten aber zweimalige) Vorbehandlung mit Kaninchenblutkörperchen amboceptorfreies Komplement herstellen.

Tabelle XXIII enthält einen Versuch mit in dieser Weise erhaltenen Krötenkomplement.

Tabelle XXIII.

Nr.	Menge des mit Kaninchenserum vorbehandelten Krötenserums ccm	Resultat (nach 2 Stunden bei 20°) Reihe I	Resultat (nach 2 Stunden bei 20°) Reihe II	Kontrolle natives Serum und gewöhnliche Kaninchenblutkörperchen
1	0,4	komplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse
2	0,2	inkomplette "	0	" "
3	0,1	mäßige "	0	" "
4	0,05	geringe "	0	inkomplette Hämolyse
5	—	0	0	0

Reihe I: je 1 ccm einer 5proz. Aufschwemmung von sensibilisierten Blutkörperchen wurde mit fallenden Mengen von dem mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° vorbehandelten Krötenserum digeriert. Sensibilisierte Blutkörperchen wurden in derselben Weise wie in Tabelle XXI hergestellt.

Reihe II: je 1 ccm einer 5proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen wurde mit fallenden Mengen von dem mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° vorbehandelten Krötenserum digeriert. Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.

Die Tabelle zeigt, daß das mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° vorbehandelte Krötenserum nur auf sensibilisierte Blutkörperchen lösend wirkt, nicht aber auf gewöhnliche Kaninchenblutkörperchen. Die Komplementwirkung eines solchen Serums war jedoch sehr schwach und deshalb konnte ich es nicht zur weiteren Untersuchung von Krötenkomplement verwenden.

b) Spaltung des Krötenhämolysins in hypertonischer Kochsalzlösung.

Es wurden zunächst Versuche in 4 Reihen mit einer 17proz. Kochsalzlösung angestellt, analog der Versuche mit Schildkrötenserum.

In Reihen I, II, III und IV wurden je 0,1, 0,2, 0,3 und 0,4 ccm einer 17proz. Kochsalzlösung zugesetzt, wie in Tabelle VIII. Die Röhrchen jeder Reihe enthielten je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen und fallende Mengen von Krötenserum. Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 2 ccm.

Tabelle XXIV.

Nr.	Menge des Krötenserums ccm	Hämolyse bei Reihe			
		I	II	III	IV
1	0,5	komplett	stark	mäßig	0
2	0,4	„	mäßig	0	0
3	0,3	„	„	0	0
4	0,2	mäßig	0	0	0
5	0,1	0	0	0	0
6	0,05	0	0	0	0
7	—	0	0	0	0

Die Röhrchen von Reihe IV, in denen keine Hämolyse eingetreten war, wurden zentrifugiert. Die Sedimente wurden mit einer 0,85proz. Kochsalzlösung gewaschen und einzeln in je 1,5 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, jede Aufschwemmung wurde in drei Teile geteilt (Sedimente a, b und c).

Die Abgüsse wurden durch Zusatz von entsprechenden Mengen von destilliertem Wasser isotonisch gemacht und jeder Abguß wurde auch in drei Teile geteilt (Abgüsse a, b und c).

Mit den so erhaltenen Abgüssen und Sedimenten wurden Versuche in 3 Reihen angestellt.

Tabelle XXV.

Versuch mit den Sedimenten.

Nr.	Menge des Krötenserums, das bei der Vorbehandlung des Blutes benutzt wurde ccm	Hämolyse bei Reihe		
		A	B	C
1	0,5	komplett	stark	0
2	0,4	"	mäßig	0
3	0,3	"	Spur	0
4	0,2	"	0	0
5	0,1	"	0	0
6	0,05	inkomplett	0	0

In Reihe A wurden die Sedimente a mit je 1,0 ccm Krötenkomplement (1:15) digeriert.

In Reihe B wurden die Sedimente b mit 1 ccm $^1/_{11}$ Endstück des Krötenkomplements (siehe Tabelle XXX) digeriert.

In Reihe C wurden Sedimente c mit 0,85proz. Kochsalzlösung digeriert.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 1,5 ccm.

In Reihe A wurden die Abgüsse a mit 0,3 ccm 5proz. Aufschwemmung von sensibilisierten Blutkörperchen[1]) digeriert.

In Reihe B wurden Abgüsse b mit je 0,3 ccm 5proz. Aufschwemmung von gewöhnlichen Kaninchenblutkörperchen digeriert.

In Reihe C wurden Abgüsse c mit je 0,1 ccm inaktivierten Krötenserums und mit je 0,3 ccm 5proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen digeriert.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.

---

[1]) Sensibilisierte Blutkörperchen wurden in derselben Weise wie in Tabelle XXI hergestellt.

Tabelle XXVI.
Versuch mit den Abgüssen.

Nr.	Menge des Krötenserums, das bei der Vorbehandlung des Blutes benutzt wurde ccm	Hämolyse bei Reihe A	Hämolyse bei Reihe B	Hämolyse bei Reihe C
1	0,5	komplett	komplett	komplett
2	0,4	„	„	„
3	0,3	„	mäßig	„
4	0,1	„	0	„
5	0,1	„	0	„
6	0,05	inkomplett	0	fast komplett

Es ergibt sich aus den beiden Versuchen, daß bei Digerieren von Blutkörperchen mit Krötenserum in hypertonischen Salzkonzentrationen die Amboceptoren an Blutkörperchen gebunden werden.

Beim Digerieren mit großen Mengen des Krötenserums banden kleine Teile des Mittelstücks und Reste von Amboceptoren blieben ungebunden in den Abgüssen. Beim Digerieren mit kleinen Mengen des Serums wurden aber die ganzen Teile der Amboceptoren an Blutkörperchen gebunden, während das Komplement vollkommen ungebunden in der Lösung blieb.

Eine gute Isolierung des Komplements von Krötenhämolysin gelang mir, wie beim Schildkrötenhämolysin, auch durch Digerieren des gesalzenen Krötenserums mit Kaninchenblutkörperchen bei Zimmertemperatur.

Tabelle XXVIIa.

Nr.	Menge des Krötenserums ccm	Zum Serum zugesetztes Kochsalz	Kaninchenblutkörperchen (unverdünnt) ccm	1 Stunde bei Zimmertemperatur und dann zentrifugiert
1	2,0	0,051 g (d. h. 0,017 × 3)	1,0	geringe Hämolyse, Abguß zeigte etwas gerötete Färbung
2	2,0	0,068 g (d. h. 0,017 × 4)	1,0	Spur-Hämolyse, Abguß zeigte eine wenig gerötete Farbe
3	2,0	0,085 g (d. h. 0,017 × 5)	1,0	keine Hämolyse, Abguß zeigte keine Farbe
4	2,0	—	1,0	fast komplette Hämolyse

Die Abgüsse von Röhrchen 1, 2 und 3 wurden durch Zusatz von destilliertem Wasser isotonisch gemacht, wie folgt:

1. 2 ccm Abguß von Röhrchen 1 + 6 ccm H_2O
2. 2 „ „ „ „ 2 + 8 „ „
3. 2 „ „ „ „ 3 + 10 „ „

Darauf wurden Versuche in je 2 Reihen mit den einzelnen Abgüssen ausgeführt.

Reihe I: je 1 ccm sensibilisierter Blutkörperchen (5proz.) und fallende Mengen von Abgüssen.

Reihe II: je 1 ccm gewöhnlicher Kaninchenblutkörperchen (5proz.) und fallende Mengen von Abgüssen.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.

Tabelle XXVIIb.

Nr.	Menge des Serums (Abguß) ccm	Resultat mit Abguß von						Kontrolle: natives Serum und gewöhnliche Blutkörperchen
		Röhrchen 1		Röhrchen 2		Röhrchen 3		
		I	II	I	II	I	II	
1	0,4	komplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse	0	komplette Hämolyse
2	0,2	„	0	„	0	„	0	„
3	0,1	inkomplette Hämolyse	0	fast komplette Hämolyse	0	„	0	„
4	0,05	0	0	inkomplette Hämolyse	0	fast komplette Hämolyse	0	fast komplette Hämolyse

Der Versuch zeigt, daß die Abgüsse auf die sensibilisierten Blutkörperchen lösend wirkten, nicht aber auf gewöhnliche Blutkörperchen. Besonders zeigte der Abguß von Röhrchen 3 stärkere Komplementwirkung.

Wenn ein Digerieren des gesalzenen Krötenserums mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° vorgenommen worden war, so genügte ein kleiner Zusatz des Kochsalzes schon, wie es auch beim Schildkrötenserum der Fall war. Das gesalzene Serum wurde meist nur 1mal, in einigen Fällen 2mal, bei 0° mit Blutkörperchen digeriert.

Tabelle XXVIIIa.

Nr.	Bei 0° abgekühltes Krötenserum (unverdünnt) ccm	Kochsalzdosis	Kaninchenblutkörperchen (unverdünnt) ccm	1 Stunde bei 0° dann zentrifugiert
1	2,0	0,017 g	1,0	keine Hämolyse, Abguß: farblos
2	2,0	0,034 g (d. h. 0,017 × 2)	1,0	keine Hämolyse, Abguß: farblos
3	2,0	0,051 g (d. h. 0,017 × 3)	1,0	keine Hämolyse, Abguß: farblos
4	2,0	—	1,0	mäßige Hämolyse, Abguß: mäßig rot

Nach dem Zentrifugieren, das mit bei 0° abgekühlten Zentrifugengläsern ausgeführt wurde, wurden die Abgüsse durch Zusatz von destilliertem Wasser isotonisch gemacht, wie folgt:

1. 2,0 ccm Abguß von Röhrchen 1 + 2 ccm H_2O
2. 2,0 „ „ „ „ 2 + 4 „ „
3. 2,0 „ „ „ „ 3 + 6 „ „
4. 2,0 „ „ „ „ 4 + 0 „ „

Reihe I: je 1 ccm sensibilisierter Blutkörperchen (5proz.) und fallende Mengen von Abgüssen.

Reihe II: je 1 ccm gewöhnlicher Blutkörperchen (5proz.) und fallende Mengen von Abgüssen.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.

Tabelle XXVIIIb.

Nr.	Menge des Serums (Abguß) ccm	Hämolyse (nach 3 Stunden bei 20°) bei Abguß von								Kontrolle: natives Serum und gewöhnl. Blutkörp.
		Röhrchen 1		Röhrchen 2		Röhrchen 3		Röhrchen 4		
		I	II	I	II	I	II	I	II	
1	0,4	komplett	0	komplett	0	komplett	0	komplett	0	komplett
2	0,2	„	0	„	0	„	0	fast	0	„
3	0,1	„	0	„	0	„	0	inkompl.	0	„
4	0,05	inkompl.	0	inkompl.	0	fastkompl.	0	0	0	fastkompl.

Es ergibt sich aus diesem Versuche, daß man in obengenannter Weise ein recht gutes amboceptorfreies Komplement erhalten kann. Die Abgüsse von Röhrchen 1, 2 und 3 zeigten besonders starke

Komplementwirkung, während der Abguß von Röhrchen 4 ziemlich schwach war.

Die gleicherweise wie in Tabellen XXVIIa und XXVIIIa hergestellten amboceptorfreien Komplemente wurden auch unter Anwendung eines durch Erwärmung (1/2 Stunde bei 44° C) inaktivierten Serums auf ihre komplettierende Kraft geprüft (siehe Tabelle XXIX).

In Reihe I wurden Abgüsse 1, 2 und 3, welche wie bei Röhrchen 1, 2 und 3 in Tabelle XXVIIa gewonnen worden waren, mit inaktiviertem Krötenserum und Kaninchenblutkörperchen digeriert.

In Reihe II wurden Abgüsse 1, 2, 3 und 4, welche wie bei Röhrchen 1, 2, 3 und 4 in Tabelle XXVIIIa gewonnen worden waren, ebenfalls mit inaktiviertem Krötenserum und Kaninchenblutkörperchen digeriert.

Tabelle XXIX.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.
Hämolyse nach 3 Stunden bei 20° C.

Nr.	Inaktiviertes Krötenserum ccm	Menge des zu prüfenden Serums (Abguß) ccm	Kaninchenblutkörperchen (5%) ccm	Hämolyse bei Reihe I Abguß 1	2	3	II Abguß 1	2	3	4
1	0,2	0,4	1,0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
2	0,2	0,2	1,0	"	"	"	"	"	"	stark
3	0,2	0,1	1,0	stark	stark	"	"	"	"	mäßig
4	0,2	0,05	1,0	0	0	stark	st.	st.	st.	0
5	0,5	—	1,0	0	0	0	0	0	0	0
6	—	0,4	1,0	0	0	0	0	0	0	0

Anmerkung. k. = komplett, st. = stark.

Die Resultate dieser Versuche stimmten mit denjenigen der Tabellen XXVII b und XXVIII b überein. Die Abgüsse 1, 2 und 3 von beiden Reihen zeigten eine recht starke Komplementwirkung, während Abguß 4 von Reihe II nur sehr schwach war. Die Sedimente der Röhrchen von Tab. XXVIIa und XXVIIIa waren alle gut sensibilisiert.

Aus den Resultaten der obenerwähnten verschiedenen Versuche kann geschlossen werden, daß das Krötenhämolysin auch aus zwei Komponenten Amboceptor und Komplement besteht.

2. Versuch zur Spaltung des Krötenkomplements.

Es wurde Krötenkomplement in derselben Weise wie das Schildkrötenkomplement gespaltet. Versuchsweise gebrauchte ich auch verdünnte Salzsäure und CO_2.

Tabelle XXX veranschaulicht einen Versuch mit zwei Komponenten des Krötenkomplements, das mit verdünnter Salzsäure gespalten wurde, wie folgt:

Zu 2 ccm bei 0° abgekühlten Krötenserum wurden 0,017 g Kochsalz hinzugefügt und mit 1,0 ccm abgekühlten Kaninchenblutkörperchen bei 0° eine Stunde lang digeriert und dann zentrifugiert. Der Abguß enthielt keinen Amboceptor mehr, das Komplement blieb aber fast vollkommen in der Lösung. Nachdem 1 ccm Abguß durch Zusatz von 1 ccm destilliertem Wasser isotonisch gemacht worden war, wurden 8,2 ccm $\frac{1}{250}$ bis $\frac{1}{200}$ normaler Salzsäure hinzugefügt. Das Zentrifugieren wurde nach 1 Stunde vorgenommen. Der Abguß wurde filtriert, dann durch Zusatz von 0,8 ccm 10 proz. Kochsalzlösung, die $\frac{1}{25}$ bis $\frac{1}{20}$ normaler Natronlauge enthielt, neutralisiert und isotonisch gemacht. Das Sediment wurde mit 2 ccm 0,85 proz. Kochsalzlösung aufgelöst. Der Abguß: Endstück (1:11). Das Sediment: Mittelstück (1:2).

Tabelle XXX.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 2,5 ccm.

Nr.	Mit Krötenamboceptor sensibilisierte Blutkörperchen ccm	Mittelstück 1:2 ccm	Endstück 1:11 ccm	0,85 proz. Kochsalzlösung ccm	Hämolyse bei 20° C
1	0,5	0,4	1,5	0,1	komplett
2	0,5	0,3	1,5	0,2	"
3	0,5	0,1	1,5	0,4	inkomplett
4	0,5	0,05	1,5	0,45	Spur
5	0,5	0,6	—	1,4	0
6	0,5	0,5	—	1,5	0
7	0,5	—	2,0	—	0
8	0,5	—	1,5	0,5	0
9	0,5	—	—	2,0	0

Bei manchen Seris erwies sich verdünnte Salzsäure zur Spaltung geeigneter als Einleitung von CO_2 und Dialyse. Doch gelang auch

eine recht gute Spaltung durch die letzteren Methoden: wie bei Schildkrötenkomplement.

Im folgenden veranschauliche ich noch einen Versuch, der mit den beiden Komponenten des Komplementes, das durch Salzsäuremethode einerseits und durch Kohlensäuremethode anderseits gespaltet worden war, ausgeführt wurde.

Tabelle XXXI.
Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 2,5 ccm.

Nr.	Mit Krötenamboceptor sensibilisierte Blutkörperchen ccm	Mittelstück 1:2 ccm	Endstück 1:11 ccm	0,85 proz. Kochsalzlösung ccm	Hämolyse bei 20° C.
1	0,5	CO_2-M 0,4	CO_2-E 1,5	0,1	komplett
2	0,5	„ 0,3	„ 1,5	0,2	„
3	0,5	HCl-M 0,4	„ 1,5	0,1	„
4	0,5	„ 0,3	„ 1,5	0,2	„
5	0,5	CO_2-M 0,4	HCl-E 1,5	0,1	„
6	0,5	„ 0,3	„ 1,5	0,2	„
7	0,5	HCl-M 0,4	„ 1,5	0,1	„
8	0,5	„ 0,3	„ 1,5	0,2	„
9	0,5	CO_2-M 0,6	—	1,4	0
10	0,5	HCl-M 0,6	—	1,4	0
11	0,5	—	CO_2-E 2,0	—	0
12	0,5	—	HCl-E 2,0	—	0
13	0,5	—	—	2,0	0

Anm.: CO_2-M: durch Kohlensäuremethode erhaltenes Mittelstück.
„ -E: „ „ „ Endstück.
HCl-M: „ Salzsäuremethode „ Mittelstück.
„ -E: „ „ „ Endstück.

Aus den obigen Versuchen kann man den Schluß ziehen, daß auch das Krötenhämolysin aus drei Komponenten, nämlich Amboceptor, Mittelstück und Endstück besteht, wie das Schildkrötenhämolysin.

II. Über die Thermoresistenz des Schildkröten- und Krötenhämolysins.

Lazar[3] und Noguchi[2] haben schon gezeigt, daß das Froschhämolysin durch ½stündige Erwärmung bei niedrigen Temperaturen (48° bis 50°) inaktiv wird. Es wurden zunächst auch die

oben beschriebenen Schildkröten- und Krötenhämolysine in bezug auf das Verhalten der Thermoresistenz untersucht.

Zu diesem Versuche wurde ganz frisches Schildkröten- und Krötenserum verwendet. Die Sera wurden eine halbe Stunde lang bei verschiedenen Temperaturgraden erwärmt. Dann wurden sie in fallenden Mengen mit je 1 ccm 5 proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen digeriert. Durch Zusatz von 0,85 proz. Kochsalzlösung wurde die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens auf 5 ccm aufgefüllt.

Tabelle XXXII.
Versuch mit Schildkrötenserum.

Nr.	Menge des Schildkrötenserums ccm	Resultat mit dem erhitzten Serum bei 40°	41°	42°	43°	44°	45°	46°	47°	48°	natives Serum
1	0,5	k.	k.	k.	k.	k.	k.	i.k.	i.k.	0	k.
2	0,4	"	"	"	"	"	"	"	"	0	"
3	0,3	"	"	"	"	"	"	"	0	0	"
4	0,2	"	"	"	"	"	i.k.	0	0	0	"
5	0,1	"	"	"	"	"	0	0	0	0	"
6	0,05	i.k.	i.k.	i.k.	0	0	0	0	0	0	i.k.

Anm.: k. = komplette Hämolyse; i.k. = inkomplette Hämolyse; 0 = keine Hämolyse.

Tabelle XXXIII.
Versuch mit Krötenserum.

Nr.	Menge des Krötenserums ccm	Resultat mit dem erhitzten Serum bei 40°	41°	42°	43°	44°	45°	natives Serum
1	0,5	k.	i.k.	0	0	0	0	k.
2	0,4	"	"	0	0	0	0	"
3	0,3	"	"	0	0	0	0	"
4	0,2	i.k.	0	0	0	0	0	"
5	0,1	0	0	0	0	0	0	"
6	0,05	0	0	0	0	0	0	i.k.

Die Versuche zeigten, daß das Schildkrötenhämolysin durch eine halbstündige Erwärmung bei 48° und das Krötenhämolysin schon durch eine halbstündige Erwärmung bei 42° ihr hämolytisches Vermögen verlieren. Um festzustellen, ob diese Inakti-

Tabelle XXXIV.
Versuch mit Schildkrötenserum.

Nr.	Menge des erhitzten Serums	Resultat mit dem erhitztem Serum bei																							
		48°				50°				52°				54°				55°				56°			
	ccm	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1	0,5	k.	k.	i.k.	0	k.	k.	0	0	k.	k.	0	0	k.	0	0	0	k.	0	0	0	k.	0	0	0
2	0,4	„	„	0	0	„	„	0	0	„	i.k.	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0
3	0,3	„	„	0	0	„	„	0	0	„	„	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0
4	0,2	„	i.k.	0	0	„	i.k.	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0
5	0,1	„	„	0	0	„	„	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	i.k.	0	0	0
6	0,05	i.k.	0	0	0	i.k.	0	0	0	i.k.	0	0	0	i.k.	0	0	0	i.k.	0	0	0	„	0	0	0

Tabelle XXXV.
Versuch mit Krötenserum.

Nr.	Menge des erhitzten Serums	Resultat mit dem erhitzten Serum bei																											
		41°				42°				43°				44°				45°				46°				47°			
	ccm	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1	0,5	k.	k.	i.k.	0	k.	k.	i.k.	0	k.	i.k.	0	0	k.	0	0	0	k.	0	0	0	i.k.	0	0	0	0	0	0	0
2	0,4	„	„	0	0	„	„	0	0	„	„	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	0	0	0	0
3	0,3	„	„	0	0	„	i.k.	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0,2	„	i.k.	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	i.k.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0,1	i.k.	0	0	0	i.k.	0	0	0	i.k.	0	0	0	i.k.	0	0	0	„	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0,05	„	0	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	„	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

vierung auf die Schädigung nur eines Teils des Komplements oder auf sämtliche Teile desselben zurückzuführen war, habe ich folgende Versuche angestellt:

Es wurden mit den bei verschiedenen Temperaturgraden 30 Minuten lang erwärmten Seris Versuche in je 4 Reihen ausgeführt.

Reihe I: fallende Mengen erhitzten Serums + je 0,5 ccm Kaninchenblutkörperchen (5proz.) + je 1,5 ccm Komplement (Schildkrötenkomplement 1:20, Krötenkomplement 1:15). Das Schildkrötenkomplement wurde in derselben Weise wie bei Tabelle V und das Krötenkomplement wie bei Tabelle XXI hergestellt.

Reihe II: statt Komplement je 1,5 ccm Endstück (1:10), sonst wie bei Reihe I.

Reihe III: statt Komplement je 0,7 ccm Mittelstück (1:11), sonst wie bei Reihe I.

Reihe IV: ohne Komplementzusatz, sonst wie bei Reihe I.

Die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens der einzelnen Reihen betrug 2,5 ccm.

Aus den Tabellen 34, 35 ist zu ersehen, daß durch Erwärmung des Schildkrötenhämolysins bei 48° nur das Endstück seine Wirksamkeit verliert, während das Mittelstück noch wirksam bleibt. Erst durch Erwärmung bei 54° wurde das Mittelstück wirkungslos. Das Endstück des Krötenkomplements war bereits durch Erwärmung bei 42° unwirksam geworden, während das Mittelstück erst durch Erwärmung bei 44° seine Aktivität verlor. Was nun die Thermostabilität des Amboceptors von Schildkröten- und Krötenhämolysin anbetrifft, so verlor der Krötenamboceptor bereits durch eine halbstündige Erwärmung bei 47°, der Schildkrötenamboceptor erst bei 60° seine Wirksamkeit.

III. Über die Wirkungsweise der Kaltblüterhämolysine.

1. Versuch über das Verhalten der Komplemente von verschiedenen Tierarten auf die mit Schildkröten- oder Krötenamboceptoren beladenen Kaninchenblutkörperchen.

Zu diesem Versuche wurden sowohl amboceptorfreie Schildkröten- und Krötenkomplemente als auch normale Sera von Meerschweinchen, Kaninchen und Hammel in Anwendung gebracht.

Bei den Versuchen wurden je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung von sensibilisierten Blutkörperchen mit fallenden Mengen von

Tabelle XXXVI.

Versuch mit den mit Schildkrötenamboceptor beladenen Kaninchenblutkörperchen.

Nr.	Sensibilisierte Blutkörperchen (5 proz.) ccm	Menge der Komplemente ccm	Resultate mit Komplementen von					Kontrolle: gewöhnliche Blutkörperchen und fallende Mengen der Komplemente von				
			Schildkröten	Kröten	Meerschweinchen	Kaninchen	Hammel	Schildkröten	Kröten	Meerschweinchen	Kaninchen	Hammel
1	1,0	0,4	komplett	komplett	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1,0	0,3	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
3	1,0	0,2	„	inkompl.	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1,0	0,1	„	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	1,0	0,05	inkompl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle XXXVII.

Versuch mit den mit Krötenamboceptor beladenen Kaninchenblutkörperchen.

Nr.	Sensibilisierte Blutkörperchen (5 proz.) ccm	Menge der Komplemente ccm	Resultate mit Komplementen von					Kontrolle: gewöhnliche Blutkörperchen und fallende Mengen der Komplemente von				
			Schildkröten	Kröten	Meerschweinchen	Kaninchen	Hammel	Schildkröten	Kröten	Meerschweinchen	Kaninchen	Hammel
1	1,0	0,4	komplett	komplett	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1,0	0,3	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
3	1,0	0,2	„	„	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1,0	0,1	inkompl.	„	0	0	0	0	0	0	0	0
5	1,0	0,05	0	inkompl.	0	0	0	0	0	0	0	0

Komplementen digeriert. Durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung wurde die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens auf 5 ccm aufgefüllt.

Aus diesen beiden Versuchen (Tab. 36, 37) geht hervor, daß die mit Schildkrötenamboceptor beladenen Blutkörperchen nicht durch Zusatz von Schildkrötenkomplement, sondern auch durch Zusatz von Krötenkomplement aufgelöst werden können, während die Komplemente von verschiedenen Warmblütern, wie Meerschweinchen, Kaninchen und Hammel, gar keine Wirkung auf dieselben zeigten. Auf mit Krötenamboceptor beladene Blutkörperchen verhielten sich die Komplemente von Schildkröten und Kröten sowie die Komplemente von den 3 Warmblütern genau so wie auf die mit Schildkrötenamboceptor beladenen Blutkörperchen.

Man kann wohl annehmen, daß das Schildkröten- und Krötenkomplement bei obenerwähnter Versuchsanordnung einander vertreten kann, während Warmblüterkomplemente, soweit ich sie geprüft habe, dies nicht können.

2. Versuch über das Verhalten des Schildkröten- und Krötenkomplements auf die mit von Kaninchen stammenden Immunamboceptor beladenen Hammelblutkörperchen.

Beim Versuch wurde das Serum eines mit Hammelblutkörperchen vorbehandelten Kaninchens verwendet. Die Amboceptoreinheit betrug für 1 ccm der 5proz. Blutaufschwemmung unter Verwendung von 0,1 ccm Meerschweinchenkomplement: 0,00015 ccm.

Krötenserum wirkte auf Hammelblutkörperchen nicht hämolytisch (siehe Tabelle XVII). Schildkrötenserum übte dagegen auf Hammelblutkörperchen eine ziemlich starke hämolytische Kraft aus (siehe Tabelle I). Es mußte deshalb vor der Benutzung als Komplement sein Amboceptor entfernt werden, was wie folgt geschah:

2 ccm eines bei 0° abgekühlten, gesalzenen Schildkrötenserums (2 ccm Schildkrötenserum + 0,017 g Kochsalz) wurde mit 1 ccm unverdünnter Hammelblutkörperchen (ebenso abgekühlt) gemischt. Die Mischung blieb eine Stunde lang bei 0° stehen, dann wurde sie zentrifugiert. Das in dieser Weise 1- bis 2mal mit Hammelblutkörperchen digerierte Schildkrötenserum enthielt keinen nachweisbaren Amboceptor mehr. So erhaltenes Serum wurde durch Zusatz von 2 ccm destilliertem Wasser isotonisch gemacht.

Tabelle XXXVIII.
Versuch mit Hammelblutkörperchen, die mit 10 Amboceptoreinheiten sensibilisiert worden waren.
Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.

Nr.	Sensibilisierte Blutkörperchen (5 proz.) ccm	Menge des Komplements ccm	Resultate mit Komplementen von			Kontrolle: gewöhnliche Hammelblutkörperchen und Komplemente von		
			Schildkröten	Kröten	Meerschweinchen	Schildkröten	Kröten	Meerschweinchen
1	1,0	0,4	0	0	komplett	0	0	0
2	1,0	0,3	0	0	„	0	0	0
3	1,0	0,2	0	0	„	0	0	0
4	1,0	0,1	0	0	„	0	0	0
5	1,0	0,05	0	0	„	0	0	0
6	1 0	0,03	0	0	„	0	0	0
7	1,0	0,01	0	0	f. kompl.	0	0	0

Es ergibt sich also aus diesem Versuche, daß das Schildkröten- und Krötenkomplement auf den Amboceptor, welcher von einem mit Hammelblutkörperchen vorbehandelten Kaninchen stammte, keine komplettierende Wirkung zeigte.

Der Grund ist wohl der, daß das Schildkröten- und Krötenkomplement für den Kaninchenamboceptor keine passende, bindende Gruppe enthält. Dieser Befund verhält sich ganz analog der Bemerkungen von Wechsberg[10] und Moreshi[11], daß das Vogelkomplement für die vom Säugetier stammenden Amboceptoren nicht paßt.

3. Versuch über die gegenseitige Vertretung von Schildkrötenendstück und Krötenendstück.

Liefmann und Cohn[13] hatten schon festgestellt, daß das Mittelstück des Hammelserums mit dem Endstück des Meerschweinchenserums Hämolyse ergibt. Ein gleichartiges Resultat hat Landsteiner[12] erzielt, wonach das Kaninchenmittelstück mit dem Meerschweinchenendstück gute Komplementwirkung zeigte. Marks[17] und Fränkel[19] hatten auch die Sera von verschiedenen Warmblütern auf diese Frage untersucht. Auch sie bestätigen die genannte Tatsache.

Es dürfte interessant sein, festzustellen, ob Schildkröten- und Krötenendstück einander vertreten können.

Das zu diesem Versuche benutzte Mittelstück und Endstück des Kröten- und Schildkrötenkomplements wurde durch die bereits erwähnte Salzsäuremethode gewonnen.

Tabelle XXXIX.

Versuch mit den mit Schildkrötenamboceptor beladenen Blutkörperchen.

Gesamtflüssigkeit des Röhrchens: 2,5 ccm.

Nr.	Sensibilisierte Blutkörperchen ccm	Menge des Schildkrötenmittelstücks 1 : 2 ccm	Menge des Endstücks 1 : 11 ccm	0,85 proz. Kochsalzlösung ccm	Hämolyse nach 3 Std. bei 20° C.
1	0,5	0,4	Sch-E 1,5	0,1	komplett
2	0,5	0,3	„ 1,5	0,2	„
3	0,5	0,2	„ 1,5	0,3	inkomplett
4	0,5	0,4	K-E 1,5	0,1	komplett
5	0,5	0,3	„ 1,5	0,2	inkomplett
6	0,5	0,2	„ 1,5	0.3	mäßig
7	0,5	—	Sch-E 2,0	—	0
8	0,5	—	K-E 2,0	—	0
9	0.5	0,5	—	1,5	0
10	0,5	—	—	2,0	0

Anm.: In dieser und den folgenden Tabellen bedeutet Sch-E: Schildkrötenendstück; K-E: Krötenendstück.

Tabelle XL.

Versuch mit den mit Krötenamboceptoren beladenen Blutkörperchen.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 2,5 ccm.

Nr.	Sensibilisierte Blutkörperchen ccm	Menge des Krötenmittelstücks 1 : 2 ccm	Menge der verschiedenen Endstücke 1 : 11 ccm	0,85 proz. Kochsalzlösung ccm	Hämolyse nach 3 Std. bei 20° C.
1	0,5	0,4	Sch-E 1,5	0,1	komplett
2	0,5	0,3	„ 1,5	0,2	stark
3	0,5	0,2	„ 1,5	0,3	gering
4	0,5	0,4	K-E 1,5	0,1	komplett
5	0,5	0,3	„ 1,5	0,2	„
6	0,5	0,2	„ 1,5	0,3	inkomplett
7	0,5	—	Sch-E 2.0	—	0
8	0,5	—	K-E 2,0	—	0
9	0,5	0,5	—	1,5	0
10	0,5	—	—	2,0	0

Es ergibt sich also aus vorstehenden beiden Versuchen, daß das Schildkrötenendstück und das Krötenendstück einander ersetzen können.

IV. Einige Beiträge zur Kenntnis der hämolytischen Komplemente und Amboceptoren.

1. Über das Verhalten des Komplements und seiner zwei Komponenten bei wechselnder Konzentration.

Kiß[23] und Scheller[24] haben gefunden, daß die zur Hämolyse erforderliche Komplementmenge bei wechselnder Konzentration in einem bestimmten Verhältnis wechselt. Die Beobachtung wurde kürzlich von Fränkel[20] und Liefmann[16] bestätigt. Dieser Befund hat für den Beweis der Fermentnatur des Komplementes nicht unbedingten Wert, sondern er ist mit großer Vorsicht zu behandeln, da die Hämolyse anderer Stoffe (Saponin, Seife, Lecithin u. a.), welche keine fermentative Wirkung besitzen, fast in gleicher Weise verläuft (Liefmann und Andrew[13] und Liebermann und Fenyvessy[21]). Wohl aber ist diese Tatsache für das Studium der Wirkungsweise der Komplemente bemerkenswert. Deshalb habe ich zunächst mit Schildkröten- und Krötenhämolysin einige Versuche in dieser Richtung ausgeführt.

a) Versuch mit Schildkröten- und Krötenhämolysin.

Beim Versuche wurden in einer Reihe von Röhrchen gleichbleibende Mengen von Schildkröten- bzw. Krötenserum mit absteigenden Mengen von physiologischer Kochsalzlösung genommen und dann je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen zugesetzt. Die Röhrchen wurden bei 20° C aufbewahrt.

Tabelle XLI.
Versuch mit Schildkrötenhämolysin.

Nr.	Kaninchenblutkörperchen (5 proz.) ccm	Schildkrötenserum ccm	0,85 proz. Kochsalzlösung ccm	Lösungszeit (bei 20° C)
1	1,0	0,2	3,8	nach 15 Min. total
2	1,0	0,2	8,8	„ 20 „ „
3	1,0	0,2	18,8	„ 30 „ „
4	1,0	0,2	28,8	„ 50 „ „

Tabelle XLII.
Versuch mit Krötenhämolysin.

Nr.	Kaninchenblutkörperchen (5 proz.) ccm	Krötenserum ccm	0,85 proz. Kochsalzlösung ccm	Lösungszeit (bei 20° C)
1	1,0	0,2	3,8	nach 20 Min. total
2	1,0	0,2	8,8	„ 30 „ „
3	1,0	0,2	18,8	„ 45 „ „
4	1,0	0,2	28,8	„ 60 „ „

Aus Tab. 41, 42 ergibt sich, daß eine wesentliche Beeinflussung der Konzentration auf den zeitlichen Ablauf der Hämolyse eingetreten ist.

Weiterhin wurde die Minimale komplett lösende Dosis des Kaltblüterhämolysins bei wechselnden Konzentrationen bestimmt. Die Ergebnisse sind in den folgenden 2 Tabellen gezeigt:

Tabelle XLIII.
Versuch mit Schildkrötenhämolysin.

Nr.	Gesamtvolumen ccm	Kaninchenblutkörperchen (5 proz.) ccm	Minimal-komplettlösende Dosis des Schildkrötenhämolysins (bei 20° C) nach			
			15 Min. ccm	30 Min. ccm	1 Std. ccm	2 Std. ccm
1	5,0	1,0	0,2	0,1	0,1	0,1
2	10,0	1,0	0,2	0,2	0,1	0,1
3	20,0	1,0	0,3	0,2	0,1	0,1
4	30,0	1,0	0,3	0,3	0,2	0,1

Tabelle XLIV.
Versuch mit Krötenhämolysin.

Nr.	Gesamtvolumen ccm	Kaninchenblutkörperchen (5 proz.) ccm	Minimal-komplettlösende Dosis des Krötenhämolysins (bei 20° C) nach			
			15 Min. ccm	30 Min. ccm	1 Std. ccm	2 Std. ccm
1	5,0	1,0	0,3	0,2	0,1	0,1
2	10,0	1,0	0,3	0,3	0,2	0,1
3	20,0	1,0	0,4	0,4	0,2	0,1
4	30,0	1,0	0,5	0,4	0,3	0,2

Wechselnde Konzentrationen zeigten auch auf die Wirkung des Schildkröten- und Krötenkomplements großen Einfluß, wie folgende zwei Tabellen erkennen lassen.

Tabelle XLV.
Versuch mit ambozeptorfreiem Schildkrötenkomplement.

Nr.	Gesamtvolumen ccm	Sensibilisierte Blutkörperchen (5proz.) ccm	Komplett-lösende Komplementdosis (bei 20° C) nach 15 Min. ccm	30 Min. ccm	1 Std. ccm	2 Std. ccm
1	5,0	1,0	0,2	0,1	0,1	0,1
2	10,0	1,0	0,3	0,2	0,1	0,1
3	20,0	1,0	0,3	0,2	0,1	0,1
4	30,0	1,0	0,4	0,3	0,2	0,1

Tabelle XLVI.
Versuch mit ambozeptorfreiem Krötenkomplement.

Nr.	Gesamtvolumen ccm	Sensibilisierte Blutkörperchen (5proz.) ccm	Komplett-lösende Komplementdosis (bei 20° C) nach 15 Min. ccm	30 Min. ccm	1 Std. ccm	2 Std. ccm
1	5,0	1,0	0,2	0,2	0,1	0,1
2	10,0	1,0	0,3	0,2	0,1	0,1
3	20,0	1,0	0,3	0,3	0,2	0,1
4	30,0	1,0	0,4	0,3	0,2	0,1

Die oben angeführten Ergebnisse der Versuche über das Verhalten der sämtlichen Hämolysine und Komplemente von Schildkröten und Kröten bei wechselnden Konzentrationen zeigten eine genaue Übereinstimmung der Ergebnisse der mit Warmblüterhämolysinen angestellten Versuche.

b) Versuch mit Meerschweinchenkomplement.

Es wurde als Amboceptor inaktiviertes Serum von Kaninchen, welches durch intravenöse Injektionen von Hammelblutkörperchen vorbehandelt worden war, benutzt. Die Amboceptoreinheit betrug 0,0002 ccm. Als Komplement wurde frisches Meerschweinchenserum verwendet. Das Ergebnis des Versuches war wie folgt:

Tabelle XLVII.

Nr.	Gesamtvolumen ccm	Mit 10 Ambozeptoreinheiten sensibilisierte Blutkörperchen (5 proz.) ccm	Minimal-komplettlösende Dosis des Komplementes nach 30 Min. ccm	1 Std. ccm	2 Std. ccm	6 Std. ccm	24 Std. ccm
1	5,0	1,0	0,04	0,04	0,02	0,02	0,02
2	10,0	1,0	0,05	0,04	0,03	0,03	0,03
3	20,0	1,0	0,06	0,05	0,04	0,04	0,04
4	30,0	1,0	0,06	0,06	0,05	0,04	0,04

Dieser Versuch fiel in Übereinstimmung mit den Angaben von Scheller und Fränkel aus. Wechselnde Amboceptordosis zeigte auch beim Versuche mit wechselnder Konzentration ähnliche Verhältnisse. Das Ergebnis des Versuches zeigt folgende Tabelle.

Tabelle XLVIII.

Nr.	Gesamtvolumen ccm	Zur Sensibilisierung der Blutkörperchen benutzte Ampozeptoreinheiten (je 1 ccm 5 proz. Blut)	Komplettlösende Dosis nach 30 Min. ccm	1 Std. ccm	2 Std. ccm	6 Std. ccm	24 Std. ccm
1	5,0	2	0,2	0,1	0,05	0,05	0,05
2	15,0	2	0,3	0,2	0,1	0,08	0,08
3	30,0	2	0,4	0,3	0,2	0,1	0,1
4	5,0	5	0,06	0,04	0,04	0,04	0,04
5	15,0	5	0,1	0,05	0,05	0,05	0.05
6	30,0	5	0,1	0,08	0,08	0,08	0,08
7	5,0	20	0,05	0,04	0,03	0,02	0,02
8	15,0	20	0,08	0,05	0,04	0,03	0,03
9	30,0	20	0,1	0,06	0,05	0,04	0,04
10	5,0	50	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01
11	15,0	50	0,06	0,04	0,02	0,02	0,02
12	30,0	50	0,06	0.05	0,03	0,03	0,03

Versuche durch wechselnde Konzentration mit wechselnder Dosis von Schildkröten- und Krötenamboceptoren fielen auch analog obiger Tabelle aus.

Sodann wurde untersucht, wie sich wechselnde Konzentrationen auf die Bindung der Amboceptoren an Blutkörperchen verhalten. Zu dem Zweck wurden in einer Reihe von Röhrchen je 50 Ein-

heiten von Amboceptoren mit absteigenden Mengen von physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, dann wurde zu jedem Röhrchen je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung von Blutkörperchen zugefügt. Die Röhrchen blieben bei 37° eine Stunde lang stehen und wurden dann zentrifugiert. Die Abgüsse wurden auf den noch in ihnen verbliebenen Amboceptorgehalt austitriert.

Tabelle XLIX.

Nr.	Gesamtvolumen ccm	Blutkörperchen (5 proz.) ccm	Zugesetzte Ambozeptoreinheiten	In den Abgüssen verbliebene Ambozeptoreinheiten
1	2,0	1,0	50	3
2	5,0	1,0	50	5
3	20,0	1,0	50	7

Der Versuch lehrt, daß wechselnde Konzentration auf die Amboceptorbindung großen Einfluß hatte. Die Versuche mit Schildkröten- und Krötenamboceptor zeigten ein analoges Verhalten.

Scheller hat behauptet, daß das Komplement bei gleicher Konzentration verschieden große Mengen von sensibilisierten Blutkörperchen mit gleicher Schnelligkeit zu lösen imstande ist. Liefmann und Andrew kamen aber zu dem Schluß, daß es nicht möglich ist, mit einer bestimmten Komplementmenge beliebig viel Blut aufzulösen, daß aber, je mehr Blut vorhanden war, desto mehr zur Lösung kam.

Da dieser Befund auf den Wirkungsmechanismus des Komplements bemerkenswert ist, entschloß ich mich zu einer Nachprüfung.

Tabelle L.

Nr.	Menge der sensibilisierten Blutkörperchen (unverdünnt) ccm	0,85 % Kochsalzlösung ccm	Komplement 1 : 10 ccm	Resultat nach 2 Std.	Resultat nach 24 Std.	Menge des ungelöst gebliebenen Blutes ccm	Es wurden also gelöst (auf 5 proz. Blut berechnet) ccm
1	0,05	8,95	1,0	komplett	komplett	—	1,0
2	0,25	8,75	1,0	„	„	—	5,0
3	0,5	8,5	1,0	„	„	—	10,0
4	1,0	8,6	1,0	inkompl.	inkompl.	0,05	19,0
5	2,0	7,0	1,0	„	„	0,2	36,0
6	4,0	5,0	1,0	„	„	0,8	64,0
7	8,0	1,0	1,0	„	„	3,0	100,0

In einer Reihe von Röhrchen wurden absteigende Mengen von den mit 10 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Hammelblutkörperchen genommen und durch Zusatz von 0,85proz. Kochsalzlösung auf gleichmäßige Volumen (9 ccm) aufgefüllt, endlich wurden den einzelnen Röhrchen je 1,0 ccm Komplement (1:10) hinzugefügt. Darauf wurden sie 2 Stunden lang bei 37° (im Wasserbad nach Liefmann) angesetzt und dann bis zum nächsten Tage im Eisschrank aufbewahrt. Diejenigen Röhrchen, in welchen die Blutkörperchen nicht vollständig gelöst worden waren, wurden abzentrifugiert, die Menge der ungelöst gebliebenen Blutkörperchen wurde bestimmt und diejenige der vollständig gelösten Blutkörperchen festgestellt.

In Bestätigung der Angaben von Liefmann und Andrew zeigte dieser Versuch die ganz auffallende Erscheinung, daß eine Komplementmenge, welche nur 10,0 ccm 5proz. Blut komplett löst, beim Digerieren mit den großen Mengen des Blutes eine erstaunlich große Menge (100,0 ccm, also das Zehnfache) zu lösen imstande ist. Röhrchen 1, 2 und 3, in welchen 0,05 bis 0,5 ccm Blut (was 1,0 bis 10,0 ccm 5proz. Blut entspricht) enthält, zeigten mit fast gleicher Schnelligkeit komplette Hämolyse. Jedoch war es nicht möglich, mit einer bestimmten Komplementmenge beliebig viel Blutkörperchen aufzulösen, aber je mehr Blutkörperchen vorhanden waren, desto größere Mengen wurden gelöst.

Dasselbe Verhalten konnte ich auch bei Hämolysin von Schildkröten- und Krötenserum beobachten.

Interessant war es auch zu untersuchen, inwiefern wechselnde Konzentration auf die Einwirkung des Endstücks gegenüber persensibilisierten Blutkörperchen sich verhält. Zum Versuche wurden bei 0° nach Sachs persensibilisierte Blutkörperchen verwandt. Das Endstück wurde durch Salzsäuremethode von Meerschweinchenserum gewonnen. Das Ergebnis des Versuches zeigt folgende Tabelle.

Tabelle LI.

Nr.	Gesamtvolumen ccm	Persensibilisierte Blutkörperchen (5 proz.) ccm	Minimal-lösende Dosis des Endstücks (1 : 10) nach 15 Min. ccm	30 Min. ccm	1 Std. ccm
1	5,0	1,0	0,4	0,3	0,3
2	15,0	1,0	0,5	0,4	0,3
3	30,0	1,0	0,8	0,5	0,3

Der Versuch zeigt, daß bei größeren Volumen die Endstückwirkung verzögert worden ist.

Bei anderen Versuchen wurde auch untersucht, wie wechselnde Konzentration auf die Persensibilisierung der Blutkörperchen (also Bindung des Mittelstücks an sensibilisierte Blutkörperchen) sich verhält.

In zwei Reihen von Röhrchen wurden je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung von Blutkörperchen, welche mit 10 Einheiten von Amboceptoren sensibilisiert worden waren, mit absteigenden Mengen von 0,85proz. Kochsalzlösung digeriert. Alle Röhrchen blieben bei 0°. Dann wurde jedem Röhrchen je 1 ccm Komplement (1:10), welches ebenfalls bei 0° abgekühlt wurde, zugesetzt und alle Röhrchen verblieben weiter in Eis bei 0°. Reihe I wurde nach dreißig Minuten, Reihe II nach einer Stunde zentrifugiert. Einzelne Sedimente wurden mit einer abgekühlten Kochsalzlösung (0,85proz.) gewaschen. Zu je 0,3 ccm 5proz. Aufschwemmung von jedem Sedimente wurden fallende Mengen vom Endstück (1:10), welches durch Salzsäuremethode gewonnen worden war, zugesetzt. Durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung wurde die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens auf 1,5 ccm aufgefüllt (siehe Tabelle LII).

Tabelle LII.

Die Zusammensetzung von beiden Reihen war folgende:

Nr.	Gesamtvolumen ccm	Sensibilisierte Blutkörperchen ccm	Komplement (1:10) ccm
1	3,0	1,0	1,0
2	15,0	1,0	1,0
3	30,0	1,0	1,0

Jedes Röhrchen wurde bei 0° aufbewahrt. Reihe I nach dreißig Minuten und Reihe II nach einer Stunde zentrifugiert.

Nr.	Menge des Endstücks ccm	Sediment (5 proz.) ccm	Kochsalzlösung (0,85 proz.) ccm	Resultat Reihe I Röhrchen 1	2	3	Reihe II Röhrchen 1	2	3
1	0,3	0,3	0,9	k.	k.	k.	k.	k.	k.
2	0,2	0,3	1,0	k.	i. k.	i. k.	k.	k.	k.
3	0,1	0,3	1,1	k.	i. k.	0	k.	k.	k.

Anmerkung. k = komplette Hämolyse; i. k. = inkomplette Hämolyse; 0 = keine Hämolyse.

Der Versuch zeigte, daß bei halbstündigem Digerieren bei 0° das Sediment von Röhrchen 1 (Gesamtvolumen 3,0 ccm) sehr stark und die Sedimente von Röhrchen 2 und 3 (Gesamtvolumen 15,0 und 30,0 ccm) nur sehr schwach persensibilisiert wurde. Bei einstündigem Digerieren zeigten aber alle drei Sedimente gleichstarke Persensibilisierung.

Das Verhalten der wechselnden Konzentration auf die Bindung des isolierten Mittelstücks zeigt folgende Tabelle.

Das zu diesem Versuch verwendete Mittelstück und Endstück wurde durch Kohlensäuremethode gewonnen.

Tabelle LIII.

Nr.	Gesamtvolumen ccm	Mit 10 Amboceptoreinheiten sensibilisierte Blutkörperchen ccm	Mittelstück (1 : 10) ccm	1 Std. bei 37°, dann zentrifugiert. Sedimente wurden gewaschen und mit je 1 ccm Endstück (1 : 10) gemischt	Hämolyse nach 1 Std.	Hämolyse nach 2 Std.
1	3,0	1,0	1,0		komplett	komplett
2	15,0	1,0	1,0		mäßig	fast kompl.
3	30,0	1,0	1,0		gering	mäßig

Das Resultat dieses Versuches war sehr merkwürdig, denn die wechselnde Konzentration übte auf die Bindung des isolierten Mittelstücks eine deutliche Beeinflussung aus. Bei der Benutzung der stark sensibilisierten Blutkörperchen (30 bis 50 Amboceptoreinheiten) war dieses Verhalten nicht so deutlich. Es war bei großen Volumen, wie Röhrchen 3, auch eine gute Bindung des Mittelstücks erkennbar, wenngleich sie ziemlich verzögert worden war.

Ferner habe ich auch untersucht, ob eine bestimmte Menge des Endstücks verschieden große Mengen von persensibilisierten Blutkörperchen mit gleicher Schnelligkeit lösen kann. Die persensibilisierten Blutkörperchen wurden auch nach Sachs hergestellt. Das Endstück wurde durch Salzsäuremethode gewonnen.

Das Resultat dieses Versuches war insofern sehr auffallend, als Röhrchen 1 bis 3, in welchem 0,05 bis 0,5 ccm Blut enthalten war, in fast gleicher Zeit komplette Hämolyse zeigten und daß, je mehr Blut vorhanden war, desto mehr zur Lösung kam. Eine Endstückmenge, welche nur 10 ccm Blut (5proz.) komplett lösen kann, war imstande 140,0 ccm, also das 14fache, zu lösen.

Tabelle LIV.

Nr.	Gesamtvolumen ccm	Persensibilisierte Blutkörperchen unverdünnt ccm	Endstück (1 : 10) ccm	Resultat nach 30 Min.	2 Std.	24 Std.	Menge des ungelöst gebliebenen Blutes ccm	Es wurden also gelöst (auf 5proz. Blut berechnet)
1	10,0	0,05	1,0	k.	k.	k.	—	1,0 ccm
2	10,0	0,25	1,0	k.	k.	k.	—	5,0 „
3	10,0	0,5	1,0	f. k.	k.	k.	—	10,0 „
4	10,0	1,0	1,0	i. k.	i. k.	i. k.	0,02	19,6 „
5	10,0	2,0	1,0	„	„	„	0,08	38,4 „
6	10,0	4,0	1,0	„	„	„	0,3	74,0 „
7	10,0	8,0	1,0	„	„	„	1,0	140,0 „

2. Über die Bindung des isolierten Mittelstücks in hypertonischer Kochsalzlösung.

Wie v. Dungern und Hirschfeld[25] schon gezeigt haben, findet eine Bindung des Mittelstücks des Komplements in hypertonischer Kochsalzlösung an amboceptorbeladene Blutkörperchen statt, wenn letztere stark sensibilisiert worden sind. Kürzlich hat Guggenheimer[26] gefunden, daß hypertonische Kochsalzlösung auf die Bindung des isolierten Mittelstücks hemmend wirkt.

Um einen näheren Einblick in diesen Befund zu erhalten, habe ich folgenden Versuch ausgeführt.

Das zum Versuch benutzte Mittelstück wurde durch Kohlensäuremethode gewonnen.

Röhrchen I: 0,25 ccm sensibilisierter (mit 10 Amboceptoreinheiten) Blutkörperchen (20proz.) + 0,5 ccm Komplement (1:5) + 0,25 ccm 10proz. Kochsalzlösung.

Röhrchen II: 0,25 ccm sensibilisierter (auch mit 10 Amboceptoreinheiten) Blutkörperchen + 0,5 ccm Mittelstück (1:5) + 0,25 ccm 10proz. Kochsalzlösung.

Beide Röhrchen wurden 1 Stunde lang bei 37° aufbewahrt, dann zentrifugiert. Mit beiden Sedimenten wurde nachstehender Versuch angestellt.

Röhrchen A: Sediment von Röhrchen I + 0,5 ccm Endstück (1:10) + 2,5 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung.

Röhrchen B: Sediment von Röhrchen II + 0,5 ccm Endstück (1:10) + 2,5 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung.

1 Stunde bei 37°.

Resultat: Röhrchen A: komplette Hämolyse,
„ B: geringe „

Dieser Versuch fiel in genauer Bestätigung der Angaben von Guggenheimer aus. Des weiteren habe ich auch die Bindung des isolierten Mittelstücks in hypertonischer Kochsalzlösung mit stark sensibilisierten Blutkörperchen studiert. Das Ergebnis des Versuches war folgendes:

Tabelle LVa.

Reihe	Nr.	Mittelstück (1 : 5) ccm	10 proz. NaCl-lösung ccm	Sensibilisiertes Blut (20%) ccm	1 Std. bei 37°	Zentrifugiert	H_2O ccm	Sensibilisiertes Blut (20%) ccm	1 Std. bei 37°	Zentrifugiert
I.	1	0,5	0,25	10 E 0,25	ja	ja	—	—	—	—
	2	0,3	0,25	„ 0,25	„	„	—	—	—	—
	3	0,1	0,25	„ 0,25	„	„	—	—	—	—
II.	1	0,5	0,25	30 E 0,25	„	„	—	—	—	—
	2	0,3	0,25	„ 0,25	„	„	—	—	—	—
	3	0,1	0,25	„ 0,25	„	„	—	—	—	—
III.	1	0,5	0,25	—	„	—	2,0	10 E 0,25	ja	ja
	2	0,3	0,25	—	„	—	2,0	„ 0,25	„	„
	3	0,1	0,25	—	„	—	2,0	„ 0,25	„	„
IV.	1	0,5	0,25	—	„	—	2,0	30 E 0,25	„	„
	2	0,8	0,25	—	„	—	2,0	„ 0,25	„	„
	3	0,1	0,25	—	„	—	2,0	„ 0,25	„	„

Anmerkung. 10 E und 30 E: mit 10 bzw. 30 Ambozeptoreinheiten sensibilisierte Blutkörperchen.

Die Blutsedimente der einzelnen Röhrchen wurden gewaschen und in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, sodann mit je 1 ccm Endstück (1 : 10) vermischt. Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 3 ccm. Das Ergebnis war folgendes:

Tabelle LVb.

Nummer der Röhrchen	Hämolyse bei Reihe I	II	III	IV
1	mäßig	komplett	komplett	komplett
2	gering	„	„	„
3	Spur	mäßig	mäßig	mäßig

Der Versuch zeigte, daß das isolierte Mittelstück beim Digerieren mit den mit 10 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen in hypertonischer Kochsalzlösung im Sinne von Guggenheimer in seiner Bindung gehindert wird. Jedoch zeigte es beim Digerieren mit den mit 30 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen in hypertonischer Kochsalzlösung eine sehr gute Bindung. Gleichzeitig lehrte der Versuch, daß hypertonische Kochsalzlösung in der oben beschriebenen Versuchsanordnung keine Schädigung des Mittelstücks verursacht.

3. Verhalten der Bindung des isolierten Mittelstücks bei 0°.

Beim Digerieren des Komplements bei 0° mit den mit großen Amboceptormengen sensibilisierten Blutkörperchen tritt, wie Sachs und Bolkowska zeigten, eine gute Bindung des Mittelstücks an letztere ein. Ich untersuchte nun, wie sich das isolierte Mittelstück beim Digerieren mit sensibilisierten Blutkörperchen bei 0° verhält.

Das zu diesem Versuche benutzte Mittelstück wurde mittels der Kohlensäuremethode gewonnen. In Reihen I und II wurden mit 8 Amboceptoreinheiten sensibilisierte Blutkörperchen und in Reihen III und IV mit 20 Amboceptoreinheiten sensibilisierte Blutkörperchen zugesetzt. Die Zusammensetzung jeder Reihe war folgende:

Tabelle LVIa.

Reihe	Nr.	Mittelstück 1:10 ccm	Komplement 1:10 ccm	Sensibilisiertes Blut (5 proz.) ccm	1 Stunde bei 0°	Zentrifugiert
I.	1	1,0	—	8E 1,0	ja	ja
	2	0,5	—	„ 1,0	„	„
	3	0,2	—	„ 1,0	„	„
II.	1	—	1,0	„ 1,0	„	„
	2	—	0,5	„ 1,0	„	„
	3	—	0,2	„ 1,0	„	„
I.	1	1,0	—	20E 1,0	„	„
	2	0,5	—	„ 1,0	„	„
	3	0,2	—	„ 1,0	„	„
IV.	1	—	1,0	„ 1,0	„	„
	2	—	1,0	„ 1,0	„	„
	3	—	1,0	„ 1,0	„	„

Anmerkung. 8E und 20E: 8 bzw. 20 Ambozeptoreinheiten.

Die Blutsedimente der einzelnen Röhrchen wurden gewaschen und in 0,85proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, darauf wurde je 1 ccm Endstück (1:10) zugesetzt. Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchen: 3 ccm. Das Resultat zeigt folgende Tabelle LVI b.

Tabelle LVIb.

Nr.	Menge des Endstücks (1:10) ccm	Resultat der Reihe I	II	III	IV
1	1,0	komplett	komplett	komplett	komplett
2	1,0	stark	„	„	„
3	1,0	mäßig	fast komplett	fast komplett	„

Aus dem Versuch geht hervor, daß eine Bindung des isolierten Mittelstücks auch bei 0° an amboceptorbeladenen Blutkörperchen stattfindet. Jedoch war die Bindung bei schwach sensibilisierten Blutkörperchen etwas geringer als bei stark sensibilisierten.

4. Zur Frage über das Verhalten der beiden Komponenten des Komplementes gegenüber thermischen Einfluß.

Die Frage der thermischen Einflüsse auf die beiden Komponenten des Komplementes ist noch nicht genau gelöst. Ferrata[9] hatte zunächst nur dem Endstück eine Thermolabilität zugeschrieben, während nach ihm das Mittelstück durch eine halbstündige Erwärmung bei 56° C nicht zerstört werden soll. Indeß haben spätere Untersuchungen von verschiedenen Autoren, wie Brand[29], Tsurusaki[27], Guggenheimer[26] u. a., gezeigt, daß nicht nur das Endstück, sondern auch das Mittelstück thermolabil ist. Besonders hat Guggenheimer angegeben, daß sich bei seinen Versuchen das Mittelstück thermischen Einflüssen gegenüber oft labiler erwies als das Endstück.

Was nun die thermischen Einflüsse auf die beiden Komponenten des ungespaltenen Komplementes anbetrifft, so haben Friedemann[30], Levaditi und Mutermilch[31] dem Mittelstück relative Thermostabilität zugeschrieben. Marks[36] gab auch an, daß das nicht isolierte Mittelstück relativ thermostabil, das isolierte Mittelstück thermolabil ist.

a) Versuch mit Gesamtkomplement.

Frisches Meerschweinchenserum wurde bei 56° zehn und dreißig Minuten lang erwärmt. Jedes erhitzte Serum wurde unter An-

wendung von Endstück (durch Kohlensäuremethode gewonnen) und 2 Arten von sensibilisierten Blutkörperchen, welche mit 10 und 30 Amboceptoreinheiten sensibilisiert waren, geprüft.

Tabelle LVII.

10ESB und 30ESB: mit 10 bzw. 30 Ambozeptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen.

10 Min. S und 30 Min. S: 10 bzw. 30 Minuten lang bei 56° erhitztes Serum.

E: Endstück.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 3 ccm.

Menge des Endstücks (1:10) ccm	Menge des erhitzten Meerschweinchenserums ccm	Menge des ersensibilisierten Blutes (5%) ccm	Reihe I				Reihe II			
			10Min. S + 10ESB	E + 10Min. S + 10 ESB	10Min. S + 30ESB	E + 10Min. S + 30ESB	30Min. S + 10ESB	E + 30Min. S + 10ESB	30Min. S + 30ESB	E + 30Min. S + 30ESB
1,5	0,1	1,0	0	kompl.	mäßig	kompl.	0	stark	spur	kompl.
1,5	0,06	1,0	0	"	spur	"	0	mäßig	0	"
1,5	0,04	1,0	0	stark	0	"	0	0	0	"
1,5	0,02	1,0	0	mäßig	0	stark	0	0	0	stark
1,5	0,01	1,0	0	0	0	mäßig	0	0	0	mäßig

Kontrolle: 2,0 ccm Endstück + mit 10 Ambozeptoreinheiten sensibilisiertes Blut. Keine Hämolyse.

2,0 ccm Endstück + mit 30 Ambozeptoreinheiten sensibilisiertes Blut. Keine Hämolyse.

Es ergibt sich aus diesem Versuch, daß das Endstück des Meerschweinchenkomplements durch 10 Min. lange Erwärmung zerstört wird, während das Mittelstück noch wirksam bleibt. Durch ½stündige Erwärmung des Komplementes wird das Mittelstück abgeschwächt, so daß beim Digerieren mit den mit 10 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen die Hämolyse fast ausblieb. Indessen zeigte das Serum bei Digerieren mit den mit 30 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen komplette Hämolyse.

Die durch Spaltung des durch ½stündige Erwärmung inaktivierten Meerschweinchenkomplementes gewonnenen Komponenten hatten Eigenschaften, die aus folgender Tabelle zu ersehen sind.

Tabelle LVIII.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.
E und M: End- und Mittelstück, von frischen Komplement gewonnen.
E 56° und M 56°: End- und Mittelstück, von bei 56° ½ Stunde lang erhitzten Komplement gewonnen.

Menge des Mittelstücks 1 : 10 ccm	Menge des Endstücks 1 : 10 ccm	5 proz. sensibilisiertes Blut (25 Amb-E) ccm	Resultat			
			E + M	E 56° + M 56°	E + M 56°	E 56° + M
1,0	1,0	1,0	komplett	0	kompl.	0
0,5	1,0	1,0	„	0	„	0
0,2	1,0	1,0	„	0	stark	0
0,1	1,0	1,0	mäßig	0	mäßig	0

E und M sowie E 56° und M 36° zeigten für sich allein keine Hämolyse.

Die Tabelle zeigt, daß das Mittelstück, welches durch Spaltung des erhitzten Komplementes gewonnen wurde, wirksam war, das Endstück dagegen ganz zerstört worden war.

Es wurde noch untersucht, ob man sensibilisierte Blutkörperchen mit Komplement, welches in obenerwähnter Weise inaktiviert war, leicht persensibilisieren kann. Zum Versuche wurden bei 56° 15 und 30 Minuten lang erwärmte Meerschweinchensera verwendet.

Tabelle LIX.

Endstück 1 : 10 ccm	Menge des persensibilisierten Blutes (5 proz.) ccm	Hämolyse bei den persensibilisierten Blutkörperchen	
		A	B
1,0	1,0	komplett	komplett
0,5	1,0	„	fast komplett
0,2	1,0	„	mäßig
0,1	1,0	mäßig	gering

Kontrolle: 2 ccm Endstück + sensibilisiertes Blut (25 Amb.-E). Keine Hämolyse.

Je 5 ccm mit 25 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutes (5proz.) wurden bei A mit 0,5 ccm bei 56° 15 Minuten lang erwärmten Komplementes und bei B mit 0,5 ccm bei 56° 30 Minuten lang erwärmten Komplementes gemischt. Durch Zusatz von physio-

logischer Kochsalzlösung wurden beide Röhrchen auf 10 ccm aufgefüllt, bei 37° 1 Stunde lang aufbewahrt und dann zentrifugiert.

Sedimente: persensibilisierte Blutkörperchen.

Das Endstück wurde durch Kohlensäuremethode gewonnen. Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 3 ccm.

Aus diesem Versuche (Tab. 59) geht hervor, daß man in dieser Weise Blutkörperchen sehr leicht persensibilisieren kann. Besonders geeignet erwies sich das 15 Minuten lang erhitzte Komplement (A).

Diese Methode ist sehr einfach und die durch sie erhaltenen persensibilisierten Blutkörperchen waren stets zweckmäßig.

Interessant dürfte es auch sein zu untersuchen, wie das an sensibilisierte Blutkörperchen gebundene Mittelstück sich dem thermischen Einfluß gegenüber verhält.

Zum Versuche wurden folgende 4 Arten von persensibilisierten Blutkörperchen in Anwendung gebracht:

I. persensibilisierte Blutkörperchen, welche durch Digerieren der stark sensibilisierten Blutkörperchen mit Komplement in saurem Phosphatgemisch gewonnen waren (siehe Arbeit von Michaelis und Skwirsky[22 u. 32] und Amako[33]).

II. persensibilisierte Blutkörperchen, welche nach Sachs und Bolkowska[6] hergestellt waren, und zwar:

Drei Reagentien, nämlich 5proz. sensibilisierte Blutkörperchen (10 Amboceptoreinheiten), Komplement (1:10) und 0,85proz. Kochsalzlösung, wurden zunächst bei 0° abgekühlt und dann in drei gleichen Volumen zusammen gemischt. Die Mischung blieb eine Stunde lang bei 0° stehen, danach wurde sie mit einem abgekühlten Zentrifugenglas sofort zentrifugiert. Das Sediment wurde mit abgekühlter Kochsalzlösung gewaschen.

III. Nach v. Dungern und Hirschfeld[25] in hypertonischer Kochsalzlösung persensibilisierte Blutkörperchen: 5 ccm 5proz. Aufschwemmung von mit 30 Amboceptoreinheiten persensibilisierten Blutkörperchen, 5 ccm 4proz. NaCl-Lösung und 5 ccm Komplement in einer Verdünnung 1:10. Eine Stunde lang bei 37° C, dann zentrifugiert. Sediment: persensibilisierte Blutkörperchen.

IV. Persensibilisierte Blutkörperchen, welche durch Digerieren der stark sensibilisierten Blutkörperchen (30 Amboceptoreinheiten) mit einem durch ¼stündige Erwärmung (bei 56°) inaktivierten Komplement bei 37° gewonnen waren (siehe Tabelle LX).

Durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung wurden mit

den einzelnen Arten der persensibilisierten Blutkörperchen 5proz. Aufschwemmungen hergestellt. Jede Aufschwemmung wurde in zwei Teile geteilt, von denen je ein Teil 30 Minuten lang bei 56° erwärmt wurde, während der andere Teil unerhitzt blieb.

Zu dem Versuche wurden erhitzte und unerhitzte persensibilisierte Blutkörperchen mit fallenden Mengen des Endstücks digeriert, welch letzteres durch Kohlensäuremethode gewonnen wurde. Die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens wurde durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 3 ccm aufgefüllt.

Tabelle LX.

Menge des End-stücks 1 : 10 ccm	Menge der persensi-bilisierten Blutkör-perchen (5 proz.) ccm	Hämolyse mit persensibilisierten Blutkörperchen							
		I		II		III		IV	
		erhitzt	uner-hitzt	erhitzt	uner-hitzt	erhitzt	uner-hitzt	erhitzt	uner-hitzt
0,5	1,0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
0,3	1,0	"	"	"	"	"	"	"	"
0,15	1,0	ink.	"	ink.	"	ink.	"	ink.	"
0.1	1,0	"	ink.	"	ink.	"	iuk.	"	ink.
0	1,0	0	0	0	0	0	0	0	0

Kontrolle: 1 ccm Endstück (1 : 10) und 1 ccm 5 proz. sensibilisierter Blutkörperchen (Ambozeptoreinheiten: 30). Hämolyse: 0.

Der Versuch fiel im Einklang mit den Angaben von Skwirsky so aus, daß das an sensibilisierte Blutkörperchen gebundene Mittelstück durch eine halbstündige Erhitzung bei 56° nicht zerstört worden war. Die einzelnen Arten von persensibilisierten Blutkörperchen verhielten sich dabei ganz gleich.

b) Versuch mit isoliertem Mittelstück und Endstück.

Wie bereits oben erwähnt, hatte bisher nur Ferrata dem isolierten Mittelstück Thermostabilität zugeschrieben, jedoch hatten eine Reihe Autoren, wie Brand, Tsurusaki, Marks, Guggenheimer und andere, gezeigt, daß isoliertes Mittelstück thermolabil ist.

Bei meinen diesbezüglich ausgeführten Untersuchungen habe ich zunächst in Bestätigung der Angabe zahlreicher Autoren Thermolabilität der beiden Komponenten des Komplements gefunden.

Bei späteren Untersuchungen konnte ich jedoch feststellen, daß das in destilliertem Wasser aufgeschwemmte Mittelstück verhältnismäßig thermostabil, während das in 0,85 proz. Kochsalzlösung aufgelöste thermolabil ist. Das Endstück hingegen wurde nicht nur in salzhaltiger Flüssigkeit, sondern auch in salzfreier Flüssigkeit durch Erwärmung vollständig inaktiviert.

Im folgenden führe ich die Protokolle meiner diesbezüglichen Versuche an.

Versuch mit isoliertem Mittelstück.

2 ccm Meerschweinchenserum wurden durch Kohlensäuremethode gespalten (Einleitung von Kohlensäuregas wurde bei 15° 1 Stunde lang vorgenommen). Das so erhaltene Mittelstück wurde in 20 ccm destilliertem Wasser aufgeschwemmt. Diese Mittelstückaufschwemmung wurde auf 3 Röhrchen (A, B und C) zu je 5 ccm verteilt.

Röhrchen A wurde unmittelbar 30 Minuten lang bei 56° erwärmt und dann durch Zusatz von 0,0425 Gramm Kochsalz isotonisch gemacht.

Röhrchen B wurde zunächst durch Zusatz von Kochsalz isotonisch gemacht und dann 30 Minuten lang bei 56° erwärmt.

Röhrchen C wurde auch durch Zusatz von Kochsalz isotonisch gemacht und dann sofort geprüft (unerhitztes Mittelstück).

Bei den Versuchen wurden fallende Mengen von Mittelstücklösung mit je 1 ccm Endstück (1:10) und je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung von sensibilisierten Blutkörperchen vermischt, wie folgt:

Reihe I: Fallende Mengen des erhitzten Mittelstücks von Röhrchen A + je 1 ccm Endstück (1:10) + je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung der mit 5 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen.

Reihe II: Statt des mit 5 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutes wurden die mit 30 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen angewendet; sonst wie Reihe I.

Reihe III: Erhitztes Mittelstück von Röhrchen B + Endstück + mit 5 Amboceptoreinheiten sensibilisierte Blutkörperchen.

Reihe IV: Statt der mit 5 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen die mit 30 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen, sonst wie Reihe III.

Reihe V: Unerhitztes Mittelstück (Röhrchen C) + Endstück + mit 5 Amboceptoreinheiten sensibilisierte Blutkörperchen.

Reihe VI: Statt der mit 5 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen die mit 30 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen, sonst wie Reihe V.

Tabelle LXI.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 8 ccm.

Menge des Mittelstücks (1 : 10) ccm	Hämolyse bei Reihe					
	I	II	III	IV	V	VI
1,0	fast kompl.	komplett	0	gering	komplett	komplett
0,6	sehr stark	"	0	Spur	"	"
0,4	stark	"	0	0	"	"
0,2	mäßig	fast kompl.	0	0	stark	"
0,1	Spur	mäßig	0	0	mäßig	"
—	0	0	0	0	0	0

2 ccm Mittelstück des Röhrchens A + sensib. Blut (5 Amb.-Einh.): keine Hämolyse

" " " " " + " " (30 " "): " "

" " " " B + " " (5 " "): " "

" " " " " + " " (30 " "): " "

" " " " C + " " (5 " "): " "

" " " " " + " " (30 " "): " "

" Endstück + " " (5 " "): " "

" " + " " (30 " "): " "

Der Versuch zeigte im Gegensatz zu der Angabe zahlreicher Autoren, wie Brand, Tsurusaki und andere, daß das isolierte Mittelstück auch verhältnismäßig thermostabil ist. In der Tat hat das Mittelstück in salzfreier Flüssigkeit sich durch eine halbstündige Erwärmung bei 56° nicht inaktiviert; bei Vereinigung mit stark sensibilisierten Blutkörperchen (30 Amboceptoreinheiten) zeigte es eine komplette Hämolyse.

Das Mittelstück, welches in 0,85proz. Kochsalzlösung gelöst worden war, wurde durch Erwärmen (30 Minuten lang bei 56°) vollständig inaktiviert.

Eine Erklärung dieser interessanten Tatsache werde ich im nächsten Abschnitt geben.

Versuch mit isoliertem Endstück.

2 ccm Meerschweinchenserum wurden durch Zusatz von 18 ccm destilliertem Wasser im Verhältnis von 1 : 10 verdünnt und durch Einleitung des Kohlensäuregases bei 15° gespalten. Das so erhaltene Endstück wurde auf 3 Röhrchen (A, B und C) zu je 5 ccm verteilt.

Röhrchen A wurde unmittelbar 30 Minuten lang bei 56° erwärmt und dann durch Zusatz von 0,0425 Gramm Kochsalz isotonisch gemacht.

Röhrchen B wurde zunächst durch Zusatz von entsprechender Dosis von Kochsalz isotonisch gemacht und dann 30 Minuten lang bei 56° erwärmt.

Röhrchen C wurde durch Zusatz von Kochsalz isotonisch gemacht und dann sofort geprüft (unerhitztes Endstück).

Bei den folgenden Versuchen wurden fallende Mengen des Endstückes mit je 1 ccm sensibilisierten Blutkörperchen (5proz.) und je 1 ccm Mittelstück (1:10) gemischt, und zwar:

Reihe I: Erhitztes Endstück von Röhrchen A + Mittelstück + mit 30 Amboceptoreinheiten sensibilisierte Blutkörperchen.

Reihe II: Statt Endstück von Röhrchen A, Endstück von Röhrchen B, sonst wie Reihe I.

Reihe III: Statt erhitztes Endstück, unerhitztes Endstück (Röhrchen C), sonst wie Reihe I.

Tabelle LXII.
Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 8 ccm.

Menge des Endstücks (1:10) ccm	Hämolyse bei Reihe		
	I	II	III
1,0	0	0	komplett
0,6	0	0	„
0,4	0	0	„
0,2	0	0	„
0,1	0	0	„
—	0	0	0

Kontrolle:
2 ccm Endstück von Röhrchen A + sensib. Blut: keine Hämolyse
„ „ „ „ B + „ „ : „ „
„ „ „ „ C + „ „ : „ „
„ Mittelstück + „ „ : „ „

Es geht aus diesem Versuche hervor, daß das Endstück durch ½stündige Erwärmung vollkommen inaktiviert wurde. Kochsalz in den Medien hatte auf Thermolabilität des Endstückes keine Einwirkung.

Aus den oben beschriebenen in verschiedener Weise ausgeführten Versuchen kann man den Schluß ziehen, daß das Mittel-

stück, sei es im Gesamtkomplement, sei es an Blutkörperchen gebundenes, sei es isoliertes, fast immer gleichmäßig thermostabil ist, während das Endstück stets thermolabil ist.

5. Regeneration des Komplementes.

Gramenitzki[34] teilte kürzlich die interessante Entdeckung mit, daß das durch kurzdauernde Erwärmung abgeschwächte Komplement nach der Abkühlung innerhalb eines gewissen Zeitraums eine spontane Regeneration erfährt.

Bei meinen in dieser Richtung ausgeführten Versuchen konnte ich in einigen Fällen seinen Befund bestätigen.

Als Komplement wurde auch Meerschweinchenserum benutzt, und zwar:

Meerschweinchenserum in einer Verdünnung 1:10 in Volumen von 40 ccm 7 Minuten lang in einem Wasserbad bei 56° erwärmt. Nach der Abkühlung wurde dasselbe in 4 Portionen geteilt, von denen eine direkt untersucht, die andern drei weiter aufbewahrt wurden, und zwar im Eisschrank, bei Zimmertemperatur und bei 37°.

Diese so vorbehandelten Komplemente wurden auf ihre komplettierende Kraft sensibilisierten Blutkörperchen gegenüber geprüft:

Je 1 ccm Komplement (1:10) wurde mit je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung von den mit 10 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen und je 1 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung digeriert. Die Mischungen wurden bei 37° aufbewahrt. Über das Ergebnis gibt nachstehende Tabelle näheren Aufschluß.

Tabelle LXIII.

Die Prüfung erfolgte	Hämolyse nach			
	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
sofort nach Erwärmung	0	mäßig	stark	fast komplett
nach 8 Std. (im Eisschrank)	Spur	stark	fast komplett	komplett
nach 8 Std. (bei Zimmertemperatur)	„	„	„	„
nach 8 Std. (bei 37°)	„	sehr stark	komplett	„

Es ergibt sich aus diesem Versuche, daß die komplettierende Kraft des durch Einwirkung der Wärme abgeschwächten Komple-

ments schon nach 3 Stunden bedeutend regeneriert war. Die Regeneration war bei 37° schneller und ausgesprochener als bei Zimmer- und Eisschranktemperatur.

Bei stark inaktiviertem Komplemente konnte ich aber keine nennenswerte Regeneration beobachten, wie folgende Tabelle zeigt.

Tabelle LXIV.

Die Prüfung erfolgte	Hämolyse nach		
	1 Std.	3 Std.	24 Std.
sofort	0	0	0
nach 3 Std. bei 37°	0	0	0
„ 6 „ „ „	0	0	0

Das Komplement (1:10) in Volumen von 10 ccm wurde 30 Minuten lang bei 56° erwärmt. Nach Abkühlung wurde es in drei Portionen geteilt, von denen eine sofort, die andern nach verschiedenen Zeiträumen untersucht wurden. Im übrigen blieb die Versuchsanordnung die gleiche wie bei Tabelle LXIII.

Was das Verhalten der Zeitdauer des Aufbewahrens auf die Regeneration der einmal durch kurzdauernde Erwärmung abgeschwächten Komplemente anbetrifft, so erwies sich eine zu lange Aufbewahrung des Komplementes ungeeignet, weil die schon einmal regenerierte, komplettierende Kraft dadurch wieder abnimmt (Tabelle 65).

Tabelle LXV.

Die Prüfung erfolgte	Hämolyse nach			
	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
sofort	0	gering	mäßig	sehr stark
nach 1 Std. i. Eisschrank	0	„	„	„
„ 3 „ „ „	gering	mäßig	stark	fast komplett
„ 6 „ „ „	„	„	sehr stark	komplett
„ 24 „ „ „	„	„	„	„
„ 48 „ „ „	0	gering	stark	inkomplett

Das Komplement (1:10) in Volumen von 30 ccm 7 Minuten im Wasserbad bei 56° erwärmt. Nach Abkühlung in 6 Portionen geteilt. Im übrigen blieb die Versuchsanordnung dieselbe wie in Tabelle LXIV.

Man ersieht also aus Tabelle 65, daß die Regeneration des Komplementes nicht plötzlich stattfindet, sondern erst nach einiger Zeit. Im vorliegenden Falle speziell war die Regeneration nach 6 und 24 Stunden sehr auffallend, nach 48 Stunden aber wieder abgeschwächt.

6. Über die Modifikation des Mittelstückes.

Brand[29] hat zuerst gefunden, daß das Mittelstück des Komplementes sehr schnell in physiologischer Kochsalzlösung unwirksam wird.

Wenn man das veränderte Mittelstück und das unveränderte Endstück gleichzeitig mit amboceptorbeladenen Blutkörperchen zusammenbringt, so tritt keine Hämolyse mehr ein. Dagegen war die Komplementwirkung eine gute, wenn vor dem Zusetzen des Endstücks das veränderte Mittelstück $^1/_2$ bis 1 Stunde lang mit amboceptorbeladenen Blutkörperchen digeriert worden war. Diese Modifikation des Mittelstücks wurde schon von vielen Autoren, wie Hecker[28], Friedemann[30], Liefmann und Cohn[13], Marks[17], Fränkel[20], Braun[37], Thomsen und Leschly[38] u. a., bestätigt. Die Häufigkeit des Eintretens dieser Modifikation war aber nicht konstant, denn einige Autoren haben schon nach wenigen Stunden in Kochsalzlösung die Veränderung des Mittelstücks bemerkt, während andere erst nach längerer Zeit (24 bis 48 oder noch mehr Stunden) dasselbe unwirksam fanden. Was nun die Erklärung dieser interessanten Modifikation des Mittelstücks anbetrifft, so wurden bis jetzt zwei Möglichkeiten erwähnt:

1. die Modifikation des Mittelstücks selbst,
2. Entstehung eines antikomplementären Körpers in Globulinfraktion, welcher mit dem Mittelstück nicht identisch ist.

Nachstehend zeige ich einige Versuche, welche mit dieser theoretisch und praktisch sehr interessanten Erscheinung des Mittelstücks in Verbindung stehen.

a) Das Verhalten der Temperatur auf die Umbildung des Mittelstücks.

6 ccm Meerschweinchenserum wurden durch Kohlensäuremethode gespalten. Das Globulinsediment wurde in 6 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst (1:1). Diese Mittelstücklösung wurde bei verschiedenen Temperaturen aufbewahrt und nach verschiedenen Zeiten auf seine Modifikation geprüft.

Reihe I. Versuch mit den bei Zimmertemperatur 4, 6, 24 und 48 Stunden lang aufbewahrten Mittelstücken.

Reihe II. Versuch mit den bei 37° 1 und 2 Stunden lang aufbewahrten Mittelstücken.

Reihe III. Versuch mit den bei 40° $^1/_2$ und 1 Stunde lang aufbewahrten Mittelstücken.

Kontrolle: Versuch, der nach dem Spalten des Komplements sofort ausgeführt wurde.

Tabelle LXVI.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.

Menge des Mittelstücks 1 : 1	Menge des Endstücks (1 : 10)	5proz. sensibilisiertes Blut (10 Amboceptoreinheiten)	Hämolyse bei I Zimmertemperatur				II 37°		III 40°		Kontrolle
			4	6	24	48	1	2	30	1	
ccm	ccm	ccm	Stunden				Stunden		Min.	Std.	
0,1	1,0	1,0	k.	k.	k.	0	k.	0	k.	0	k.
0,06	1,0	1,0	,,	,,	st.	0	,,	0	,,	0	„
0,03	1,0	1,0	,,	st.	0	0	st.	0	st.	0	„
0,01	1,0	1,0	i.k.	0	0	0	0	0	0	0	i.k.
0,2	—	1,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1	—	1,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
—	2,0	1,0	Spürchen								
—	1,0	1,0	0								

Anm.: k. = komplett; st. = stark; i.k. = inkomplett.

Es ergibt sich also aus diesem Versuche, daß die Brandsche Modifikation des Mittelstücks bei höherer (40°) Temperatur weit schneller eintritt als bei niedriger.

b) Das Verhalten der Salzkonzentration auf die Umbildung des Mittelstücks.

Bekanntlich tritt die Brandsche Modifikation des Mittelstücks sehr schnell in physiologischer Kochsalzlösung ein. Es wurde nun von mir untersucht, wie hypertonische Salzkonzentration sich auf diese Modifikation verhält.

Beim Versuche wurden 2 ccm frisches Meerschweinchenserum durch Kohlensäuremethode gespalten. Das so erhaltene Mittelstück wurde mit destilliertem Wasser gewaschen und in 4 ccm destillierten Wassers suspendiert, dann in 4 Portionen geteilt. (Mittel-

stück a, b, c und d.) Jede Portion wurde zentrifugiert. Danach verdünnte ich Sediment a mit 0,5 ccm destilliertem Wasser, Sediment b mit 0,5 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung, Sediment c mit 0,5 ccm 5proz. Kochsalzlösung und Sediment d mit 0,5 ccm 8proz. Kochsalzlösung. Diese Flüssigkeiten ließ ich 2 Stunden lang bei 37° stehen. Sedimente c und d wurden durch Zusatz entsprechender Mengen destillierten Wassers isotonisch gemacht. Die Gesamtflüssigkeit eines jeden Röhrchens wurde mit 0,85proz. Kochsalzlösung auf 5 ccm aufgefüllt (Verdünnung 1:10).

Das Ergebnis zeigt folgende Tabelle:

Tabelle LXVII.
Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 3 ccm.

Mittelstück (1 : 10) ccm	Endstück (1 : 10) ccm	Sensibilisiertes Blut (10 Amboceptoreinheiten) ccm	Hämolyse mit Mittelstück			
			a	b	c	d
1,0	1,0	1,0	komplett	0	komplett	komplett
0,5	1,0	1,0	„	0	„	„
0,2	1,0	1,0	„	0	inkompl.	„
0,1	1,0	1,0	inkompl.	0	mäßig	inkompl.
2,0	—	1,0	0	0	0	0
1.0	—	1,0	0	0	0	0
—	2,0	1,0	Spürchen	—	—	—
—	1.0	1,0	0	—	—	—

Es wird also, wie der Versuch zeigt, das Mittelstück in physiologischer Kochsalzlösung sehr schnell umgebildet, während es in hypertonischer Kochsalzlösung sowie in destilliertem Wasser unverändert bleibt.

c) Das Verhalten der Verdünnungsgrade des Serums bei Einleiten von Kohlensäuregase auf die Umbildung der erhaltenen Mittelstücke.

Es wurde Meerschweinchenserum in drei Arten von Verdünnungen, nämlich 1:5 (A), 1:10 (B) und 1:20 (C) hergestellt, wovon jede durch Einleitung von CO_2 (bei 15°) gespalten wurde. Durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung wurde jedes Mittelstück in einer unverdünntem Serum entsprechenden Menge gelöst (1:1). Jede Mittelstücklösung wurde 2 Stunden lang bei 37° aufbewahrt, dann geprüft.

Tabelle LXVIII.
Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 3 ccm.

Mittelstück 1 : 1 ccm	Endstück 1 : 10 ccm	5 proz. sensibilisierte Blutkörperchen (10 Amboceptoreinheiten) ccm	Hämolyse mit Mittelstück A	B	C
0,1	1,0	1,0	0	komplett	komplett
0,05	1,0	1,0	0	"	"
0,02	1,0	1,0	0	inkompl.	"
0,01	1,0	1,0	0	mäßig	stark
0,2	—	1,0	0	0	0
0,1	—	1,0	0	0	0
—	2,0	1,0	keine Hämolyse		
—	1,0	1,0	" "		

Der Versuch zeigt, daß das von einem schwach verdünnten Serum gewonnene Mittelstück schnell in die Brandsche Modifikation umgebildet wird, während das von dem stark verdünnten Serum gewonnene noch wirksam bleibt.

d) Das Verhalten der Konzentration auf die Modifikation des Mittelstückes.

Von dem durch die Kohlensäuremethode erhaltenen Mittelstück wurden mit physiologischer Kochsalzlösung 3 verschiedene Verdünnungen, nämlich 1:1 (A), 1:5 (B) und 1:10 (C) hergestellt. Nachdem die Verdünnung 6 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt worden war, wurde ihre Modifikation geprüft. Das Ergebnis veranschaulicht Tabelle 69. (Siehe Seite 64.)

Kontrolle: Mittelstück und Endstück außer in der angewandten auch in doppelten Dosen für sich allein keine Hämolyse.

In Bestätigung der Angaben von Thomsen und Leschley zeigte der Versuch, daß die Modifikation des Mittelstücks in konzentrierter Lösung viel schneller erfolgt als in verdünnter.

e) Zur Theorie der Modifikation des Mittelstücks.

Weiterhin habe ich noch untersucht, ob es sich bei der Umbildung der Globulinlösung um eine Veränderung des Mittelstücks selbst, oder ob es sich um einen besonderen hemmenden Körper handelt, welcher mit dem Mittelstück nicht identisch ist. Um dies-

Tabelle LXIX.
Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 3 ccm.

	Mittelstück ccm	Endstück (1 : 10) ccm	mit 10 Amboceptoreinheiten sensibilisiertes Blut (5 proz.) ccm	Hämolyse
A	1 : 1 0,1	1.0	1,0	0
	„ 0,05	1.0	1.0	0
	„ 0,03	1,0	1,0	0
	„ 0,01	1,0	1.0	0
B	1 : 5 0,5	1,0	1.0	komplett
	„ 0,25	1,0	1,0	fast komplett
	„ 0,15	1.0	1,0	inkomplett
	„ 0.05	1,0	1,0	0
C	1 : 10 1,0	1,0	1,0	komplett
	„ 0,5	1,0	1,0	„
	„ 0,3	1.0	1,0	fast komplett
	„ 0,1	1,0	1,0	inkomplett

bezüglich Aufklärung zu schaffen, habe ich folgenden Versuch angestellt.

4 ccm Meerschweinchenserum wurden durch Kohlensäuremethode gespaltet. Das Globulin wurde in 2 ccm 0,85 proz. Kochsalzlösung gelöst. Diese Globulinlösung wurde in zwei gleiche Teile — also je 1 ccm — zerlegt (Globulinlösung A und B).

Globulinlösung A wurde mit 10 ccm 10proz. Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen, die mit 30 Amboceptoreinheiten sensibilisiert worden waren, und 9 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung gemischt. Da Globulinlösung innerhalb einiger Stunden bei 0° keine Umbildung zeigte, so habe ich diese Mischung eine Stunde lang bei 0° aufbewahrt und dann zentrifugiert. (Die zu diesen und anderen Versuchen benutzten sensibilisierten Blutkörperchen wurden in der Weise hergestellt, daß die Blutkörperchen zunächst mit beliebigen Mengen des hämolytischen Serums eine Stunde lang bei 56° digeriert, zentrifugiert und darauf mit 0,85proz. Kochsalzlösung 3mal gewaschen wurden.)

Die in vorstehender Weise bei 0° vorbehandelte Globulinlösung (Abguß) enthielt kein nachweisbares Mittelstück mehr, wie aus folgender Tabelle zu ersehen ist:

In Reihe I wurden fallende Mengen des so erhaltenen Abgusses mit je 1 ccm Endstück (1 : 10) und je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung

der Blutkörperchen, die mit 10 Amboceptoreinheiten sensibilisiert worden waren, digeriert.

In Reihe II (Kontrollversuch) wurden statt Abguß, fallende Mengen der Globulinlösung B. welche durch Zusatz von 19 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung verdünnt worden waren, zugesetzt. Im übrigen wie in Reihe I.

Tabelle LXX.
Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 3 ccm.

Menge des Abgusses bzw. Globulinlösung B. ccm	Endstück (1 : 10) ccm	Sensibilisiertes Blut (5proz.) ccm	Hämolyse bei Reihe I	Hämolyse bei Reihe II
1,0	1,0	1,0	0	komplett
0,5	1,0	1,0	0	,,
0,2	1,0	1,0	0	,,
0,1	1,0	1,0	0	inkomplett
2,0	—	1,0	0	0
—	2,0	1,0	0	0

Nachdem ich mich durch diesen Versuch überzeugte, daß das Mittelstück in Globulinlösung A durch Absorption mit stark sensibilisierten Blutkörperchen vollständig entfernt wurde, habe ich folgenden Versuch ausgeführt:

Diese mittelstückfreie Globulinlösung A und die mittelstückhaltige Globulinlösung B wurden gleichmäßig bei 40° eine Stunde lang erwärmt und dann auf ihre Modifikation geprüft.

In Reihe I wurden fallende Mengen der bei 40° eine Stunde lang erwärmten mittelstückfreien Globulinlösung A mit je 0,5 ccm Endstück (1:10), je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung von den mit Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen und je 0,2 ccm frischen Mittelstück (1:10) digeriert.

In Reihe II wurden anstatt Globulinlösung A, fallende Mengen der bei 40° eine Stunde lang erwärmten Globulinlösung B zugesetzt. Im übrigen wie Reihe I. (Tabelle LXXI siehe Seite 289.)

In Reihe III wurde die frische Globulinlösung zugesetzt. Im übrigen wie Reihe I.

Es ergibt sich aus diesem Versuche, daß der hemmende Körper durch die einstündige Erwärmung der mittelstückfreien Globulinlösung bei 40° ebensogut wie bei der mittelstückhaltigen Globulinlösung gebildet wird.

Tabelle LXXI.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.

Menge der bei 40° erwärmten Globulinlösung A bzw. B	Endstück (1 : 10)	Mittelstück (1 : 10)	Sensibilisiertes Blut (5 proz.)	Hämolyse bei		
ccm	ccm	ccm	ccm	Reihe I	Reihe II	Reihe III
2,0	0,5	0,2	1,0	0	0	komplett
1,0	0,5	0,2	1,0	0	0	„
0,5	0,5	0,2	1,0	gering	gering	„
0,2	0,5	0,2	1,0	stark	stark	„
0,1	0,5	0,2	1,0	komplett	komplett	„
2,0	0,5	—	1,0	0	0	0
1,0	0,5	—	1,0	0	0	0
—	0,5	0,2	1,0		komplett	
—	1,0	—	1,0		0	
—	—	1,0	1,0		0	

Aus diesem Grunde kann man sagen, daß der in Globulin-Kochsalzlösung entstehende antikomplementäre Körper nicht von dem „Mittelstück", sondern von einer anderen Substanz der Globulinlösung stammen muß.

Der hemmende Körper beider Flüssigkeiten wirkte auch auf ungespaltenes Komplement antikomplementär ein, was aus folgender Tabelle ersichtlich ist.

Tabelle LXXII.

Versuchsanordnung wie Tabelle LXXI; anstatt Mittelstück und Endstück wurde aber frisches Komplement in kleinen Mengen verwendet.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.

Menge der bei 40° erwärmten Globulinlösung A bzw. B	Komplement	Sensibilisiertes Blut (5 proz.)	Hämolyse bei		
ccm	ccm	ccm	Reihe I	Reihe II	Reihe III
2,0	0,02	1,0	0	0	komplett
1,0	0,02	1,0	0	0	„
0,5	0,02	1,0	gering	gering	„
0,2	0,02	1,0	stark	stark	„
0,1	0,02	1,0	komplett	komplett	„
2,0	—	1,0	0	0	0
1,0	—	1,0	0	0	0
—	0,02	1,0		komplett	
—	—	1,0		0	

Es wurde noch untersucht, ob der hemmende Körper in umgebildeter Globulinlösung durch Absorption des Mittelstückes mit sensibilisierten Blutkörperchen einen Einfluß ausübt.

2 ccm Meerschweinchenkomplement wurden durch Kohlensäuremethode gespalten. Das Sediment wurde in 2 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung gelöst. Diese Globulinlösung wurde in zwei Röhrchen (A und B) je 1,0 ccm verteilt.

a) Globulinlösung A wurde eine Stunde lang bei 40° erwärmt. Die in dieser Weise stark umgebildete Globulinlösung wurde mit 5,0 ccm 10proz. Aufschwemmung von Blutkörperchen, welche mit 30 Amboceptoreinheiten sensibilisiert worden waren, und 4 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung gemischt. Das Röhrchen blieb bei 37° eine Stunde lang stehen und wurde dann zentrifugiert.

b) Globulinlösung B wurde ebenso wie A bei 40° erwärmt. Die so erhaltene stark umgebildete Globulinlösung wurde mit 9,5 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung verdünnt und blieb eine Stunde lang bei 37° wie a stehen.

Abguß von a und b wurden betr. Vorhandensein von hemmenden Körpern geprüft, und zwar wie folgt:

In Reihe I wurden fallende Mengen des Abgusses von Röhrchen a mit je 0,5 ccm Endstück (1:10), je 0,2 ccm Mittelstück (1:10) und je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung von den mit 5 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen digeriert.

In Reihe II wurden anstatt Abguß von Röhrchen a fallende Mengen der umgebildeten Globulinlösung B (Röhrchen b) verwendet. Im übrigen wie Reihe I.

Tabelle LXXIII.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 5 ccm.

Menge des Abgusses von a bzw. b	Endstück (1 : 10)	Mittelstück (1 : 10)	Sensibilisiertes Blut (5proz.)	Hämolyse bei	
ccm	ccm	ccm	ccm	Reihe I	Reihe II
2,0	0,5	0,2	1,0	0	0
1,0	0,5	0,2	1,0	0	0
0.5	0,5	0,2	1,0	mäßig	mäßig
0,2	0,5	0,2	1,0	fast komplett	fast komplett
0,1	0,5	0,2	1,0	komplett	komplett
2,0	0,5	—	1.0	0	0
1.0	0,5	—	1.0	0	0
—	0,5	0,2	1,0	komplett	
—	1,0		1,0	0	
—		1,0	1,0	0	

Der Versuch zeigte im Einklang mit der Angabe von Friedemann, daß umgebildete Globulinlösung A, dessen Mittelstück durch Absorption mit stark sensibilisierten Blutkörperchen entfernt worden war, ebenso wie umgebildete Globulinlösung B, dessen Mittelstück vollständig geblieben war, gleichmäßig antikomplementär wirkten. Die hemmende Wirkung der Globulinlösung stand also zum Mittelstück in keiner Beziehung.

Aus den vorstehend erwähnten beiden Versuchen (Tabelle LXXI und LXXIII) geht hervor, daß der antikomplementär wirkende Körper der modifizierten Globulinfraktion des Mittelstückes sowohl in seiner Wirkung als auch in seiner Entstehung mit dem sogenannten „Mittelstück" in keiner Beziehung steht.

Die Markssche Erscheinung, bei welcher die Globulinfraktion des Komplements in Verbindung mit gleichbleibenden Mengen des Endstückes in größeren Mengen hemmend wirkt, in kleineren Mengen dagegen eine komplette Hämolyse zeigte, habe ich auch oftmals in Bestätigung der Angabe von Thomsen und Leschly beim Arbeiten mit umgebildeter Globulinlösung (besonders bei schwach umgebildeter) beobachtet.

In Einklang mit letztgenannten Autoren möchte ich diese interessante Erscheinung damit erklären, daß große Mengen umgebildeten Globulin auch große Mengen hemmender Körper enthalten und infolgedessen die Hämolyse ausbleibt, während bei kleinen Mengen umgebildeten Globulins entsprechend geringe hemmende Substanz vorhanden ist, die jedoch zur Hämolyse noch genügende Mengen des Mittelstücks enthält.

f) Über den thermischen Einfluß auf den hemmenden Körper in der umgebildeten Globulinfraktion.

Nachdem ich mich überzeugt hatte, daß die bei Zimmertemperatur und bei 37° bis 40° bestandene Modifikation der Globulinlösung keine Veränderung des Mittelstückes selbst ist, sondern auf Veränderung einer anderen Substanz der Globulinlösung zurückzuführen ist, habe ich den thermischen Einfluß auf diesen hemmenden Körper untersucht. Die Versuchsanordnung war folgende:

Es wurde 1 ccm Meerschweinchenserum durch Kohlensäuremethode gespalten. Das Globulin wurde in 10 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung gelöst und dann eine Stunde lang bei 40° erwärmt. Die

in dieser Weise stark umgebildete Globulin-Kochsalzlösung wurde in zwei gleiche Teile geteilt (A und B).

Globulinlösung A wurde sofort auf ihre antikomplementäre Kraft untersucht.

Globulinlösung B wurde zunächst 30 Minuten lang bei 56° erwärmt und dann wie A untersucht.

In Reihe I wurden fallende Mengen der Globulinlösung A mit je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung sensibilisierter Blutkörperchen (10 Amboceptoreinheiten) und je 0,015 ccm Meerschweinchenserum digeriert.

In Reihe II wurde anstatt Globulinlösung A Globulinlösung B verwendet. Im übrigen wie Reihe I.

Tabelle LXXIV.
Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 2,5 ccm.

Mengen der Globulösung A bzw. B	Meerschweinchenserum	Sensibilisiertes Blut (5 proz.)	Hämolyse bei	
ccm	ccm	ccm	Reihe I	Reihe II
1,0	0,015	0,5	0	fast komplett
0,5	0,015	0,5	gering	komplett
0,2	0,015	0,5	mäßig	„
0,1	0,015	0,5	komplett	„
—	0,015	0,5	„	„

Aus diesem Versuche geht hervor, daß der hemmende Körper der Globulinlösung durch ½stündige Erwärmung bei 56° fast vollkommen zerstört wird.

7. Zur Frage der Thermolabilität der Mittelstück-Kochsalzlösung.

Wie ich vorhergehend erwähnt habe, wurde das in Kochsalzlösung aufgelöste Mittelstück durch ½stündige Erwärmung bei 56° vollständig inaktiviert, während das in destilliertem Wasser aufgeschwemmte verhältnismäßig thermostabil war.

In Folgendem wurden diesbezüglich noch weitere eingehende Untersuchungen gemacht.

Zunächst wurde untersucht, ob die Inaktivität der erhitzten (bei 56° 30 Minuten lang) Mittelstück-Kochsalzlösung nicht als Folge der eigentlichen Inaktivierung des Mittelstückes, sondern

als Folge der Bildung von antikomplementären Körpern, die infolge der Erwärmung der Globulin-Kochsalzlösung gebildet wurden, anzusehen ist.

1,5 ccm Meerschweinchenserum wurde durch Kohlensäuremethode gespaltet. Das Globulin wurde in 15 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung gelöst, und in drei gleiche Teile (also je 5 ccm) zerlegt — Globulinlösung A, B und C.

Globulinlösung A wurde bei 56° und B bei 40° 30 Minuten lang erwärmt und auf ihre antikomplementäre Kraft geprüft. Globulinlösung C wurde sofort (ohne Erwärmung) geprüft.

Reihe I: Globulinlösung A + Meerschweinchenserum + mit 5 Amboceptoreinheiten sensibilisiertes Blut.

Reihe II: Anstatt Globulinlösung A wurde Globulinlösung B verwendet, sonst wie Reihe I.

Reihe III: Anstatt Globulinlösung A wurde Globulinlösung C verwendet, sonst wie Reihe I.

Tabelle LXXV.
Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 2,5 ccm.

Mengen der Globulinlösungen A, B und C	Meerschweinchenserum	Sensibilisiertes Blut (5proz.)	Hämolyse nach 2 Stunden bei		
ccm	ccm	ccm	Reihe I	Reihe II	Reihe III
1,0	0,015	0,5	komplett	0	komplett
0,5	0,015	0,5	„	gering	„
0,2	0,015	0,5	„	stark	„
0,1	0,015	0,5	„	komplett	„
—	0,015	0,5	„	„	„
1,0	—	0,5	0	0	0

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, bildet sich bei Erwärmung der Globulin-Kochsalzlösung auf 56° kein hemmender Körper, während derselbe bei Erwärmung auf 40° sehr leicht gebildet wurde.

Aus diesem Grunde kann man sagen, daß die Inaktivität der erhitzten (30 Minuten lang bei 56°) Mittelstück-Kochsalzlösung nicht als Folge der Bildung von hemmenden Körpern anzusehen ist.

Es wurde noch weiterhin untersucht, ob der hemmende Körper durch Aufbewahrung der bei 56° 30 Minuten lang erhitzten Mittelstück-Kochsalzlösung gebildet werden kann, wie es bei unerhitzter Mittelstück-Kochsalzlösung der Fall ist.

Die Versuchsanordnung war folgende:

2,5 ccm Meerschweinchenserum wurden durch Kohlensäuremethode gespalten. Das Globulin wurde in 25 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung aufgelöst und diese Globulinlösung wurde in 4 Portionen geteilt (Globulin A, B, C und D).

Es wurden Globulinlösung A und B zunächst 30 Minuten bei 56° erhitzt, dann A 1 Stunde bei 40° und B 2 Stunden bei 37° aufbewahrt.

Globulinlösung C und D wurden ohne Erhitzen aufbewahrt, und zwar C bei 40° eine Stunde und D bei 37° zwei Stunden lang.

Die in dieser Art und Weise vorbehandelten 4 Arten der Globulinlösung wurden unter Anwendung von den mit 5 Amboceptoreinheiten sensibilisierten Blutkörperchen und frischem Meerschweinchenserum auf ihre antikomplementäre Kraft geprüft. Die Versuche wurden in 4 Reihen wie folgt ausgeführt:

Reihe I, II, III, IV: enthielten Globulinlösung A, B, C und D.

Tabelle LXXVI.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 2,5 ccm.

Menge der Globulinlösung	Meerschweinchenserum	Sensibilisiert. Blut (5 proz.)	Hämolyse bei			
ccm	ccm	ccm	Reihe I	Reihe II	Reihe III	Reihe IV
1,0	0,015	0,5	komplett	komplett	0	0
0,5	0,015	0,5	„	„	Spur	gering
0,2	0,015	0,5	„	„	stark	fast komplett
0,1	0,015	0,5	„	„	komplett	komplett
—	0,015	0,5	„	„	„	„
1,0	—	0,5	0	0	0	0

Es ergibt sich also aus diesem Versuche, daß die bei 56° erhitzte Globulin-Kochsalzlösung die Fähigkeit verlor, die bei der angegebenen Methode antikomplementär wirkenden Körper zu bilden, während die unerhitzten Globulinlösungen sehr leicht umgebildet wurden.

Aus den vorstehend erwähnten zwei Versuchen geht hervor, daß die Inaktivität der erhitzten Mittelstück-Kochsalzlösung zu dem hemmenden Körper in keiner Verbindung steht.

Es ist daraus der Schluß zu ziehen, daß die Inaktivität der bei 56° erhitzten Mittelstück-Kochsalzlösung auf die Ver-

änderung des Mittelstückes selbst zurückgeführt werden muß (ein Unterscheidungsmerkmal zwischen der Brandschen Modifikation des Mittelstücks und der Inaktivität der bei 56° erhitzten Mittelstückkochsalzlösung). —

8. Über den Einfluß der Temperatur auf die spezifischen Komplementbindungen.

a) Versuch bei der Wassermannschen Reaktion.

Jacobsthal[39] hatte schon veröffentlicht, daß die Wassermannsche Reaktion weit schärfer ausfallen kann, wenn man die erste Phase des Prozesses nicht im Brutschrank, sondern im Eisschrank vor sich gehen läßt.

Guggenheimer[40] hat in den bei 37° und 0° in paralleler Weise mit 623 Seris ausgeführten Versuchen gefunden, daß von den geprüften Seris 534 übereinstimmend reagierten, d. h. bei Ablauf der ersten Phase im Brutschrank sowohl als auch in der Kälte entweder negativ oder gleich stark positiv, 89 Sera reagierten dagegen verschieden. Von diesen wiesen 69 nur quantitative Differenzen auf und 20 zeigten qualitative Unterschiede, d. h. 8 nur bei 37° positiv und 12 nur bei 0° positiv.

Da diese Ergebnisse von praktischen und theoretischen Gesichtspunkten aus von Interesse sind, so wurden in unserm Laboratorium die Versuche über Wassermannsche Reaktion bei 37° und 0° in paralleler Weise angestellt.

Die Versuche der einzelnen Sera wurden wie folgt ausgeführt:

In zwei Parallelreihen (A und B) wurden absteigende Mengen des inaktivierten Patientenserums (also: 0,1, 0,05, 0,025, 0,01 und 0,005 ccm) mit je 0,5 ccm eines 10fach mit 0,85proz. Kochsalzlösung verdünnten alkoholischen Extraktes aus syphilitischer Fötalleber oder Meerschweinchenherz und 0,5 ccm 10facher Verdünnung von Meerschweinchenserum digeriert.

Reihe A wurde bei 37° und Reihe B bei 0° 1 Stunde lang aufbewahrt, und dann erfolgte der Zusatz von je 0,5 ccm 5proz. Hammelblutaufschwemmung und von je 5fach lösender Dosis des hämolytischen Serums.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 2,5 ccm.

Die Beurteilung des Resultates beider Reihen erfolgte nach 2 Stunden bei 37°.

Wie schon Guggenheimer berichtete, war die antikomple-

mentäre Wirkung der Extrakte bei 0° mehr oder weniger stärker als bei 37°. Es wurden daher die Ergebnisse der Versuche stets unter strenger Berücksichtigung der Kontrollen vorgenommen, und die Resultate der Versuche wurden nur dann festgestellt, wenn die entsprechenden Kontrollversuche, welche sowohl mit dem doppelten Multiplum der verwendeten Extraktmenge als auch mit dem doppelten Multiplum der verwendeten Serummenge ausgeführt wurden, eine komplette Hämolyse zeigten.

Folgende Tabelle enthält die Ergebnisse der mit 294 Seris in unserem Laboratorium ausgeführten Versuche.

Tabelle LXXVII.

	Positiv bei 37° u. 0°		Negativ bei 37° u. 0°	Positiv nur bei 37°	Positiv nur bei 0°
Gleich stark:	67	103	172	9	10
Stärker bei 37°:	16				
Stärker bei 0°:	20				

Wie aus vorstehender Tabelle zu ersehen ist, reagierten 239 Sera übereinstimmend; von denen 67 gleich stark positiv und 172 negativ ausfielen. 36 Sera zeigten quantitative Differenzen, und zwar 16 bei 37° und 20 bei 0° stärker positiv.

19 Sera reagierten ganz besonders abweichend, indem 9 nur bei 37° und 10 nur bei 0° positiv ausfielen.

Aus dieser Tatsache könnte man schließen, daß das Verhalten der Temperatur auf die Komplementbindungsvorgänge bei verschiedenen Seris verschieden sein könnte.

Was nun die praktische Bedeutung der Tatsache, welche die Wassermannsche Reaktion nur bei 37° oder nur bei 0° positiv resultieren läßt, anbetrifft, so mußte man zunächst klinische Befunde und Anamnese für die Syphilisdiagnose berücksichtigen. In der Tat ließ sich bei den Patienten, von welchen obenerwähnte 19 Sera stammten, klinisch oder anamnestisch Syphilisinfektion feststellen.

Aus diesem Grunde kann man in Bestätigung der Angabe von Guggenheimer sagen, daß bei den Versuchen von Wassermannscher Reaktion außer der gewöhnlichen bei 37° anzustellenden Methode noch die Kältemethode in paralleler Weise auszuführen ist.

9. Versuch bei den durch das Zusammenwirken von Bakterienextrakten und Krankenseris bedingten Komplementbindungen.

Zu diesen Versuchen wurden Sera von Typhus- und Dysenteriekranken benutzt. Die Typhusextrakte wurden mit 3 Stämmen von Typhusbazillen (polyvalente Extrakte) und die Dysenterieextrakte mit je einem Stamme von 5 Typen Dysenteriebazillen[41 u. 42] hergestellt. Zur Zubereitung der Extrakte diente die Leuchssche Methode[43].

Die Komplementbindungsversuche wurden stets in zwei Parallelreihen (A und B) ausgeführt, wie bei der oben beschriebenen Wassermannschen Reaktion. Bei Reihe A wurde der Ablauf der ersten Phase in der Kälte vorgenommen, während bei Reihe B der Ablauf der ersten und zweiten Phase bei 37° vorgenommen wurde.

Im ganzen wurden 37 Sera von Typhuskranken und 19 Sera von Dysenteriekranken zu den Untersuchungen benutzt.

Das Ergebnis der Versuche war folgendes:

Tabelle LXXVIII.
Resultat mit den Seris von Typhuskranken.

	Positiv bei 70° u. 0°		Negativ bei 37° u. 0°	Positiv nur bei 37°	Positiv nur bei 0°
Gleich stark:	5				
Stärker bei 37°:	16	22	9	7	—
Stärker bei 0°:	1				

Tabelle LXXIX.
Resultat mit den Seris von Dysenteriekranken.

	Positiv bei 37° u. 0°		Negativ bei 37° u. 0°	Positiv nur bei 37°	Positiv nur bei 0°
Gleich stark:	2				
Stärker bei 37°:	5	9	7	3	—
Stärker bei 0°:	2				

Wie aus vorstehenden zwei Tabellen zu ersehen ist, fielen die durch Bakterienextrakte und Krankensera bedingten Komplementbindungen, im Gegensatz zu der Wassermannschen Reaktion, bei 37° fast immer stärker aus, als bei 0°. Nur ein Serum von einem Typhuskranken und zwei Sera von Dysenteriekranken rea-

gierten stärker bei 0° als bei 37°. 5 Sera von Typhuskranken und 2 Sera von Dysenteriekranken reagierten bei 37° und 0° gleich stark. 16 Sera von Typhuskranken und 5 Sera von Dysenteriekranken reagierten stärker bei 37° als bei 0°. Besonders auffallend war es, daß 7 Sera von Typhuskranken und 3 Sera von Dysenteriekranken nur bei 37° reagierten, während es kein Serum gab, welches nur bei 0° reagierte.

Aus diesen Versuchen kann man wohl schließen, daß das Verhalten der Kälte auf die Wassermannsche Reaktion von demselben auf die durch Zusammenwirken der Bakterienextrakte und Krankenseras bedingte Komplementbindung etwas verschieden sein dürfte.

V. Zur Frage der heterologen Antikörperbildung.

A. Über die Bildung der spezifischen Hämolysine durch Vorbehandlung der Tiere mit Emulsionen von Organen artfremder Tiere.

Die Tatsache, daß die Hämolysine, welche man durch Injektion von gewissen Blutkörperchen erhält, nicht nur homologe Blutkörperchen, sondern auch Blutkörperchen von anderen Tierarten aufzulösen imstande sind, wurde schon von einigen Autoren, wie Brezina[43], Posselt und Sagasser[44] und Marshall[45] u. a., festgestellt. Besonders Brezina sah, daß das durch Injektion von Hammelblutkörperchen erhaltene Hämolysin Ochsenblut stärker als Hammelblut auflöste. Posselt und Sagasser haben auch ähnliche Beobachtungen gemacht. Nach Marshall wirkt ein durch Menschenblutinjektion erhaltenes Hämolysin auch auf Affenblut und umgekehrt, ein durch Injektion von Affenblut gewonnenes auch auf Menschenblut.

Sehr interessante Befunde bringen auch die Arbeiten von v. Dungern[46], die von Metschnikoff[48] und Moxter[47].

V. Dungern gewann durch Vorbehandlung der Tiere mit Flimmerepithelien vom Rinde einen Amboceptor, der nicht nur auf Flimmerepithelien, sondern auch auf die Rinderblutkörperchen einwirkte. Dieser Autor hat auch durch Injektion von Rindermilch Hämolysin für Rinderblutkörperchen erhalten.

Metschnikoff und Moxter haben gezeigt, daß durch Injektion von Spermatozoen ein auf die Blutkörperchen der gleichen Tierarten einwirkender Amboceptor gewonnen wurde.

Michaelis und Fleischmann erhielten durch Injektion von Leberzellen einen Amboceptor, der sowohl für diese Organzellen als auch für die Blutkörperchen des betreffenden Tieres, von welchem das Organ stammte, spezifisch bindend war.

Kürzlich hat Forßmann[48] veröffentlicht, daß er durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Meerschweinchenorganen ein auf Hammelblut einzuwirkendes Hämolysin erhielt.

Bei meinen Untersuchungen über die Hämolysine von Kaltblüterseris habe ich gefunden, daß die Sera von den Kaninchen, welche mit den Emulsionen von Schildkröten- und Krötenorganen (Gehirn, Leber, Milz, Niere u. a.) vorbehandelt worden waren, auf Hammelblutkörperchen stark hämolytisch einwirkten, während die Sera auf die Blutkörperchen von artgleichen Tiergattungen, nämlich Schildkröten und Kröten, keine merkbare Wirkung zeigten.

In gleicher Weise gelang es mir auch, ein auf Hammelblut spezifisch einwirkendes Hämolysin durch Vorbehandlung der Kaninchen mit den Organen von Geflügel, z. B. Tauben, zu gewinnen.

In folgender Tabelle führe ich die Resultate der Versuche mit den Seris von Kaninchen, welche mit Schildkröten- und Taubenorganen vorbehandelt worden waren, an.

Die Kaninchen wurden wie folgt vorbehandelt:

Es wurden die Tiere (Schildkröten und Tauben) durch Entbluten getötet, und die Organe, nämlich Milz, Leber, Niere, Herz und Gehirn, exstirpiert. Die Organe wurden zunächst mit physiologischer Kochsalzlösung durchgewaschen und die so erhaltenen blutfreien Organstücke wurden in einer sterilisierten Reibschale zerrieben.

Je 5 Gramm der zerriebenen Organe wurden in je 50 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, dann 2 Stunden lang bei Zimmertemperatur geschüttelt und danach durch dichtes Tuch filtriert. Mit den so erhaltenen stark getrübten Flüssigkeiten wurden die Kaninchen durch intraperitoneale Injektion (gewöhnlich mit je 5 ccm der Organemulsionen) vorbehandelt. Am zehnten Tage nach den Injektionen wurden die Sera von den Kaninchen gewonnen und durch ½stündige Erwärmung bei 56° inaktiviert.

Die Wertbestimmung der erhaltenen Sera geschah unter Anwendung von je 0,1 ccm Meerschweinchenserum als Komplement und je 1 ccm 5proz. Blutaufschwemmung.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 3 ccm.

Tabelle LXXX.

Versuch mit den Seris der einmal mit den Emulsionen von Schildkröten- und Taubenorganen vorbehandelten Kaninchen.

Nr. der Kaninchen	Organe, mit welchen die Kaninchen vorbehandelt wurden		Menge der zu prüfenden Sera (ccm)						
			0,04	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005
1.	Schildkröten-	Hammelblut	+	+	+	+	+	±	0
	Gehirn	Schildkrötenblut	±	0	0	0	0	0	0
2.	Schildkröten-	Hammelblut	+	+	+	+	+	±	0
	Milz	Schildkrötenblut	0	0	0	0	0	0	0
3.	Schildkröten-	Hammelblut	+	+	+	+	+	±	0
	Leber	Schildkrötenblut	±	0	0	0	0	0	0
4.	Schildkröten-	Hammelblut	+	±	0	0	0	0	0
	Niere	Schildkrötenblut	0	0	0	0	0	0	0
5.	Schildkröten-	Hammelblut	+	+	+	±	0	0	0
	Herz	Schildkrötenblut	0	0	0	0	0	0	0
6.	Tauben-	Hammelblut	+	±	0	0	0	0	0
	Gehirn	Taubenblut	0	0	0	0	0	0	0
7.	Tauben-	Hammelblut	+	+	+	±	0	0	0
	Milz	Taubenblut	±	±	0	0	0	0	0
8.	Tauben-	Hammelblut	+	±	0	0	0	0	0
	Leber	Taubenblut	±	0	0	0	0	0	0
9.	Tauben-	Hammelblut	+	+	+	±	0	0	0
	Niere	Taubenblut	+	0	0	0	0	0	0
10.	Tauben-	Hammelblut	+	+	+	+	+	+	±
	Herz	Taubenblut	±	0	0	0	0	0	0

Bemerkung: + = komplette Hämolyse; ± = inkomplette Hämolyse; 0 = keine Hämolyse.
Titerwert der hämolytischen Kraft gegen diese 3 Blutarten des normalen Kaninchens betrug 0,1—0,4 ccm.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, daß man durch einmalige Injektion der Organe von artfremden Tieren die ziemlich stark auf Hammelblutkörperchen wirkenden Hämolysine erhalten kann. Die Hämolysine zeigten keine nennenswerte Wirkung auf die Blutkörperchen der arteigenen Tiere, nämlich Schildkröten und Tauben. Besonders scheint es mir sehr interessant, daß die Sera der mit Kaltblüterorganen vorbehandelten Kaninchen gegen die Blutkörper-

chen von warmblütigen Tieren (Hammel) stark lösend wirkten. Bemerkenswert ist es auch, daß die Sera der mit Taubenorganen vorbehandelten Kaninchen das Hammelblut zu lösen imstande waren.

Was nun die einzelnen Arten der Organe anbetrifft, so war es sehr auffallend, daß die mit Gehirn, Leber und Milz von Schildkröten vorbehandelten Kaninchen starke Hämolysine lieferten, während das mit Schildkrötenniere vorbehandelte Kaninchen eine nur sehr schwache Hämolysinbildung erkennen ließ.

Im Gegensatz zu den vorstehend geprüften Schildkrötenorganen zeigten Gehirn und Leber der verwendeten Tauben an den Kaninchen eine nur sehr schwache Hämolysinbildung, wohingegen das Herz und die Niere der Tauben eine ziemlich starke Hämolysinbildung erzeugte.

Dieses Verhalten der einzelnen Organe war aber nicht konstant; es variierte bei verschiedenen Schildkröten und Tauben sowie bei verschiedenen Kaninchen ziemlich beträchtlich.

Bei den mit Eigelb von Schildkröten 1mal vorbehandelten Kaninchen (intraperitoneale Injektion von 5 ccm 10proz. Eigelbemulsion) trat keine Hämolysinbildung im Serum ein, wohl aber konnte man nach 2maliger Injektion dieser Emulsion eine geringe Steigerung der hämolytischen Kraft des Serums beobachten, dessen Titerwert in Gegenwart von 1 ccm 5proz. Hammelblutaufschwemmung und 0,1 ccm Meerschweinchenserum 0,01 ccm betrug.

Bei meinen weiteren Untersuchungen habe ich die Organe von verschiedenen Tieren, wie Hunde, Meerschweinchen, Rinder und Katzen, in Anwendung gebracht.

Die Bereitung der Organemulsionen und die Versuchsanordnung entspricht der oben ausgeführten.

Die Tabelle LXXXI enthält die Versuchsergebnisse, welche mit den Seris von den mit Hunde-, Meerschweinchen-, Rinder- und Katzenorganen je einmal vorbehandelten Kaninchen erlangt wurden. Zu den Versuchen wurden je 1,0 ccm 5% Hammelblutkörperchenaufschwemmung und je 0,1 ccm Meerschweinchenkomplement benutzt.

Die Versuche zeigten, daß die Organe der verschiedenen, geprüften Tiere auch an Kaninchen eine Hämolysinbildung erzeugen können. Diese Fähigkeit der Organe war im allgemeinen bei Gehirn und Milz eine größere als bei den anderen Organen. Zuweilen erzeugten aber auch Leber, Herz und Lunge eine ziemlich hochgradige Hämolysinbildung.

Tabelle LXXXI.

Nr. der Kaninchen	Organe, mit welchen die Kaninchen vorbehandelt wurden	Menge der zu prüfenden Sera (ccm)							
		0,04	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	0,0002
21.	Hunde-Milz	+	+	+	+	+	±	0	0
22.	„ -Gehirn	+	+	+	+	+	+	±	0
23.	„ -Leber	±	0	0	0	0	0	0	0
24.	„ -Herz	+	+	+	±	0	0	0	0
25.	„ -Lunge	+	+	±	0	0	0	0	0
26.	„ -Niere	+	+	±	0	0	0	0	0
27.	„ -Nebenniere	±	0	0	0	0	0	0	0
28.	„ -Knochenmark	+	+	±	0	0	0	0	0
29.	„ -Muskel	+	±	0	0	0	0	0	0
30.	„ -Lymphdrüsen	+	+	+	±	0	0	0	0
31.	Meerschw.-Milz	+	+	+	+	+	±	0	0
32.	„ -Gehirn	+	+	+	+	+	+	+	±
33.	„ -Leber	+	+	+	+	+	±	0	0
34.	„ -Herz	+	+	+	±	0	0	0	0
35.	„ -Lunge	+	+	+	+	±	0	0	0
36.	„ -Niere	+	+	+	+	±	0	0	0
37.	„ -Nebenniere	+	+	±	0	0	0	0	0
38.	„ -Knochenmark	+	+	±	0	0	0	0	0
39.	„ -Muskel	+	+	+	+	+	±	0	0
40.	Katzen-Milz	+	+	+	±	±	0	0	0
41.	„ -Gehirn	+	+	+	±	0	0	0	0
42.	„ -Leber	+	+	±	0	0	0	0	0
43.	„ -Herz	+	+	+	±	0	0	0	0
44.	„ -Niere	+	±	0	0	0	0	0	0
45.	Rinds-Milz	±	0	0	0	0	0	0	0
46.	„ -Gehirn	+	+	±	0	0	0	0	0
47.	„ -Leber	+	±	0	0	0	0	0	0

Dieses Verhalten der einzelnen Organe war aber nicht konstant, wie bei den vorher erwähnten Versuchen.

Die mit Rinderorganen vorbehandelten Kaninchen zeigten gar keine oder aber nur eine sehr schwache Hämolysinbildung.

1. Über die Schwankungen der hämolytischen Kraft der Sera der mit verschiedenen Organemulsionen vorbehandelten Kaninchen.

Die Kurve der hämolytischen Kraft der Sera von den mit verschiedenen Organen vorbehandelten Kaninchen war in vielen Fällen ziemlich verschieden. Diese Verschiedenheit war von den Arten

der Tiere und Organe, dem Grade des Zerreibens der Organe, den Mengen der injizierten Organemulsionen, der Individualität der einzelnen Kaninchen, die mit Organemulsionen vorbehandelt worden waren, u. a. mehr sehr abhängig.

Im allgemeinen bleiben Hämolysinkurven 3 bis 4 Tage nach der ersten Injektion auf der Norm, steigen dann aber mehr oder weniger rasch. Die Mehrzahl erreichte am 8. bis zum 12. Tage ihr Maximum, um dann zuerst verhältnismäßig schnell und dann wieder allmählich zu fallen. Einige dagegen zeigten erst nach längerer Zeit (14 bis 18 Tage) eine geringere Steigerung und erreichten später ihren Maximalpunkt.

In folgender Tabelle habe ich einige diesbezüglich ausgeführte Versuche gezeigt:

Tabelle LXXXII.
Versuch über die Schwankungen der hämolytischen Kraft der Sera der Kaninchen, welche mit Hundeorganen einmal vorbehandelt wurden.

Nr. der Kaninchen	Organe, mit welchen die Kaninchen vorbehandelt worden waren	Amboceptoreinheiten der Sera zu verschiedenen Zeiten nach der ersten Injektion						
		4. Tag	8. Tag	12. Tag	16. Tag	20. Tag	30. Tag	40. Tag
51.	Milz	0	0,0005	0,002	0,005	0,005	0,01	0,01
52.	Leber	0	0,02	0,01	0,02	0,04	0	0
53.	Niere	0	0,005	0,01	0,01	0,005	0,04	0
54.	Nebenniere	0	0	0,02	0,01	0,02	0	0
55.	Gehirn	0	0,001	0,002	0,002	0,01	0,01	0,01
56.	Lunge	0	0,002	0,0025	0,005	0,005	0,04	0
57.	Herz	0	0,005	0,005	0,0025	0,01	0,02	0,04
58.	Muskel	0	0,01	0,005	0,01	0,01	0,04	0,04
59.	Knochenmark	0	0	0,02	0,04	0	tot	—

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, daß die Sera von den mit Milz, Gehirn, Niere und Lunge vorbehandelten Kaninchen bereits am 8. Tage ihren Maximalpunkt erreichten, während die Sera von den mit Leber, Muskel und Knochenmark vorbehandelten Kaninchen am 12. Tage und die von den mit Nebenniere und Herz vorbehandelten erst am 16. Tage ihren Höhepunkt erreicht hatten. Dieses Verhalten war aber nicht konstant, sondern war bei verschiedenen Fällen sehr variabel.

Durch einmalige Injektion der Milz oder des Gehirns von Hunden und Meerschweinchen habe ich oftmals hochwertige Sera

gewonnen, deren Titerwert 0,0003 bis 0,0005 ccm betrug. Doch findet man auf der andern Seite auch Kaninchen, die trotz mehrmaliger Einspritzungen der Organemulsionen nur sehr geringe Steigerung der Hämolysinkurve aufwiesen.

Durch intravenöse Injektion trat die Hämolysinbildung auch ziemlich gut hervor. Die Organemulsionen der verschiedenen Tiere wirkten aber oft bei intravenösen Injektionen auf Kaninchen stark toxisch, so daß die Immunisierung der Kaninchen mit den stark toxischen Organen stets durch intraperitoneale Injektion geschah.

2. Die Spezifität der durch Injektion der Organemulsionen erhaltenen Hämolysine.

Um die Spezifität der in obenerwähnter Weise erhaltenen Hämolysine zu prüfen, habe ich mit 20 Arten von Seris Hammel-, Ziegen-, Hunde-, Meerschweinchen-, Tauben-, Kröten- und Schildkrötenblut untersucht.

Tabelle LXXXIII.

Organe, mit welchen die Kaninchen vorbehandelt wurden	Titerwert (ccm) der zu prüfenden Sera auf die Blutkörperchen von							
	Hammel	Ziege	Rind	Hund	Meerschw.	Taube	Kröte	Schildkröte
Schildkröten-Milz	0,001	0,02	0	0	0	0	0	0
„ -Leber	0,0015	0,01	0	0	0	0	0	0
„ -Gehirn	0,0005	0,005	0	0	0	0	0	0
„ -Niere	0,02	0	0	0	0	0	0	0
Tauben-Leber	0,02	0	0	0	0	0	0	0
„ -Gehirn	0,02	0	0	0	0	0	0	0
„ -Herz	0,0005	0,01	0	0	0	0	0	0
„ -Niere	0,005	0,02	0	0	0	0	0	0
Meerschw.-Milz	0,0005	0	0	0	0	0	0	0
„ -Leber	0,002	0,04	0	0	0	0	0	0
„ -Gehirn	0,0005	0,03	0	0	0	0	0	0
„ -Niere	0,005	0,04	0	0	0	0	0	0
„ -Herz	0,005	0,04	0	0	0	0	0	0
„ -Muskel	0,015	0	0	0	0	0	0	0
Hunde-Milz	0,0015	0,05	0	0	0	0	0	0
„ -Leber	0,04	0	0	0	0	0	0	0
„ -Gehirn	0,0005	0,002	0	0	0	0	0	0
„ -Niere	0,04	0	0	0	0	0	0	0
„ -Lymphdrüsen	0,005	0	0	0	0	0	0	0
„ -Nebenniere	0,01	0	0	0	0	0	0	0

Die Versuchsanordnung war der der obenerwähnten Versuche ganz gleich.

Wie aus vorstehender Tabelle zu ersehen ist, wirkten die durch Vorbehandlung der Tiere mit Organemulsionen erhaltenen Hämolysine auf Hammelblutkörperchen besonders stark lösend; auf Ziegenblut zeigten die Sera gar keine oder aber nur eine sehr schwache hämolytische Kraft.

Die Sera wirkten dagegen auf die Blutkörperchen der betreffenden Tiergattungen, von welchen die zur Vorbehandlung der Kaninchen benutzten Organe stammten, sowie auf die Blutkörperchen von anderen Tierarten gar nicht lösend.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die in obenerwähnter Weise erhaltenen Hämolysine für Hammelblutkörperchen streng spezifisch sind.

3. Kann durch Vorbehandlung der Tiere mit alkoholischen Organextrakten auch eine Hämolysinbildung erzeugt werden?

Um festzustellen, ob man durch Vorbehandlung mit alkoholischen Organextrakten an Tieren ein spezifisches Hämolysin erzeugen kann, habe ich Meerschweinchenorgane, wie Milz, Leber, Niere, Lungen und Herz, mit 95proz. Alkohol extrahiert.

Beim Herstellen der Extrakte wurden die durch Spülen blutfrei gemachten Organstücke mit einer Reibschale zerrieben und je 5 Gramm zerriebene Organe in je 50 ccm Alkohol aufgesetzt und 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Darauf wurden dieselben 3 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt und dann filtriert.

In dieser Weise konnten von jedem Organe zirka 50 ccm alkoholische Extrakte erhalten werden. Jeder Extrakt wurde bei 37° verdampft und die so erhaltenen Rückstände wurden durch Zusatz von 0,85proz. Kochsalzlösung auf ihre ursprünglichen Volumina aufgefüllt.

Durch intraperitoneale Injektion mit diesen Suspensionen (je 10 ccm) wurden die Kaninchen vorbehandelt.

Trotz mehrmaliger Injektionen konnte man jedoch keine Steigerung der hämolytischen Kraft der Kaninchensera beobachten. Aus diesem Grunde kann man sagen, daß die antikörpererregende Substanz der Organe nicht durch Alkohol extrahierbar ist.

4. Über den thermischen Einfluß auf die antikörpererregende Substanz der Organzellen.

Zum Versuche wurde Meerschweinchengehirn verwendet. Die Gehirnemulsion wurde in vorhergehend beschriebener Weise bereitet.

In 5 Röhrchen wurden je 10 ccm dieser Emulsion gebracht (Röhrchen A, B, C, D und E). Es wurden Röhrchen A bei 60° B bei 70°, C bei 80°, D bei 100° je 30 Minuten erhitzt, während Röhrchen E unerhitzt blieb.

Mit diesen 5 Emulsionen wurden die Kaninchen durch intraperitoneale Injektion (je 10 ccm dieser Emulsionen) vorbehandelt. Nach 10 Tagen wurde das Blut entnommen und die hämolytische Kraft der Sera geprüft.

Die Versuchsanordnung war der vorher beschriebenen ganz gleich.

Das Ergebnis des Versuches war folgendes:

Tabelle LXXXIV.

Nr. der Kaninchen	Kaninchen wurde behandelt mit	Menge der geprüften Sera (ccm)					
		0,04	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
61.	Emulsion A (60°)	+	+	+	+	±	0
62.	„ B (70°)	+	+	±	0	0	0
63.	„ C (80°)	+	±	0	0	0	0
64.	„ D (100°)	±	0	0	0	0	0
65.	„ E (unerhitzt)	+	+	+	+	+	±

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß je höher die Temperaturgrade sind, desto mehr die antikörpererregende Substanz des Organs geschädigt wird. Durch Erwärmung bei 80° wurde dieselbe sehr stark und bei 100° fast vollkommen zerstört.

5. Kann das Hämolysin durch Vorbehandlung der Kaninchen mit Kaninchenorganen gebildet werden?

Bei diesen Versuchen wurden die Kaninchen durch Entbluten getötet und die Organe, wie Milz, Leber, Gehirn, Niere und Herz exstirpiert. Die Organemulsionen wurden wie vorher beschrieben hergestellt, und die Kaninchen mit diesen Emulsionen durch intra-

peritoneale Injektion (je 10 ccm dieser Emulsion) vorbehandelt. Nach 10 Tagen wurde das Blut entnommen und die hämolytische Kraft des Serums geprüft. Trotz mehrmaliger Injektionen konnte man aber keine Hämolysinbildung in dem Serum der so behandelten Kaninchen nachweisen.

6. Über die Verwendbarkeit der durch Vorbehandlung der Tiere mit Organemulsionen erhaltenen Hämolysine.

Die durch Vorbehandlung der Tiere mit Organemulsionen erhaltenen Hämolysine haben die Konstitution der komplexen Hämolysine. Dieselben werden durch ½stündige Erwärmung bei 56° inaktiviert und durch Zusatz einer geringen Menge frischen Meerschweinchenserums wieder aktiviert. Die Amboceptoren sind dermaßen thermostabil, daß sie sogar durch ½stündige Erwärmung bei 63° nicht geschädigt wurden.

Die Amboceptoren wurden nicht nur bei 37°, sondern auch bei 0° von Hammelblutkörperchen sehr gut gebunden. In saurem Phosphatgemisch (32 und 33) wie in hypertonischer Kochsalzlösung wurden die Amboceptoren auch an Blutkörperchen fixiert.

Die Bindung von Mittelstück des Komplements an die mit diesen Amboceptoren beladenen Blutkörperchen trat bei 37° ziemlich gut hervor, jedoch ging selbige bei 0° in sauren Medien und in hypertonischer Kochsalzlösung schwerer vonstatten als bei den Blutkörperchen, welche mit den gewöhnlichen durch Vorbehandlung der Tiere mit Hammelblut erhaltenen Amboceptoren beladen worden waren.

Tabelle LXXXVI enthält einen mit diesem Hämolysin bei 0° ausgeführten Versuch.

Beim Versuche wurden zunächst Hammelblutkörperchen mit fallenden Mengen von hämolytischen Amboceptoren, welche durch Injektion der Organemulsionen erhalten worden waren, nämlich 2, 5, 10, 25, 50 und 100 Amboceptoreinheiten, sensibilisiert.

In Reihe I wurden je 1 ccm 5proz. Aufschwemmung von diesen sensibilisierten Blutkörperchen mit je 0,1 ccm Meerschweinchenserum (1:10) bei 0° eine Stunde lang digeriert.

In Reihe II wurden die mit den absteigenden Mengen des gewöhnlichen Hämolysins sensibilisierten Blutkörperchen verwendet. Im übrigen wie bei Reihe I.

Die Mischungen von beiden Reihen wurden zentrifugiert. Die Sedimente wurden einmal gewaschen und mit je 1 ccm Endstück

(1:10), welches durch Kohlensäuremethode erhalten worden war, und je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung gemischt. Die Resultate wurden nach 2 Stunden bei 37° notiert.

Tabelle LXXXV.

Amboceptor-einheiten	Hämolyse bei	
	Reihe I	Reihe II
2	0	fast komplett
5	Spur	komplett
10	gering	"
25	mäßig	"
50	fast komplett	"
100	komplett	"

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Resultate der Versuche beider Reihen große Unterschiede aufweisen.

Reihe I zeigte nur bei Verwendung von 100 Amboceptoreinheiten eine gute Persensibilisierung, während bei Reihe II bereits bei Verwendung von 5 Amboceptoreinheiten eine solche eintrat.

Ferner wurde noch untersucht, ob man die durch Vorbehandlung der Tiere mit Organemulsionen erhaltenen Hämolysine auch für Wassermannsche Reaktion sowie für die gewöhnlichen Komplementbindungsversuche mit Bakterienextrakt und Immunserum verwenden kann.

Durch zahlreiche Versuche mit Luesserum + Antigen, Typhusimmunserum + Typhusbazillenextrakt, Choleraimmunserum + Choleravibrionenextrakt, sowie mit Pestimmunserum + Pestextrakt konnte ich feststellen, daß die obenerwähnten Hämolysine mit gutem Erfolge auch für Wassermannsche Reaktion sowie für die gewöhnlichen Komplementbindungsversuche verwendet werden können.

7. Werden die durch Organinjektion erhaltenen Amboceptoren und die durch Hammelblutinjektion erhaltenen Amboceptoren an die gleichen Receptoren der Hammelblutkörperchen gebunden?

Um diese Frage zu klären, habe ich mit beiden Arten von Hämolysinen nach Forßmann folgende Versuche ausgeführt:

In zwei Röhrchen (A und B) wurden je 5 ccm 5proz. Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen gebracht.

Die Blutkörperchen von Röhrchen A wurden mit je 200 Einheiten von den gewöhnlichen, durch Vorbehandlung der Tiere mit Hammelblut gewonnene Amboceptoren 3mal je eine Stunde bei 37° digeriert. In dieser Weise wurden die Blutkörperchen mit den Amboceptoren gesättigt.

Die Blutkörperchen von Röhrchen B wurden erst durch 4maliges Digerieren mit den durch Organinjektion erhaltenen Amboceptoren gesättigt.

Die Blutkörperchen von A und B wurden mit 0,85proz. Kochsolzlösung je 3mal gewaschen, in je 5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und dann folgende Versuche ausgeführt:

In Tabelle LXXXVIa bedeutet B-Amb. die durch Vorbehandlung der Tiere mit Hammelblut erhaltenen Amboceptoren. O-Amb. = die durch Vorbehandlung der Tiere mit Organemulsionen gewonnenen Amboceptoren.

Der Titerwert der beiden Arten von Amboceptoren betrug bei Anwendung von 0,1 ccm frischem Meerschweinchenserum und 1 ccm 5proz. Blutaufschwemmung je 0,001 ccm.

Tabelle LXXXVIa.

Nr. der Röhrchen	Menge und Arten der Amboceptoren	Menge und Arten von Blutkörperchen
1.	0,1 ccm B-Amb.	2,5 ccm Blutkörperchen A
2.	0,1 „ O-Amb.	2,5 „ „ „
3.	0,1 „ B-Amb.	2,5 „ „ B
4.	0,1 „ O-Amb.	2,5 „ „ „
5.	0,1 „ B-Amb.	2,5 „ gewöhnliche Blutkörperchen
6.	0,1 „ O-Amb.	2,5 „ „ „

Durch Zusatz von 0,85proz. Kochsalzlösung wurde die Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens auf 5 ccm aufgefüllt. Die Röhrchen blieben eine Stunde lang bei 37° stehen und wurden dann zentrifugiert. Die in den Abgüssen enthaltenen Amboceptoren wurden in folgender Weise austitriert:

Die fallenden Mengen jedes Abgusses wurden mit je 0,1 ccm Meerschweinchenserum und je 1 ccm 5proz. Hammelblutaufschwemmung digeriert.

Gesamtflüssigkeit jedes Röhrchens: 3 ccm.

Tabelle LXXXVIb.

Menge der Abgüsse ccm	Hämolyse beim Abguß von Röhrchen 1	2	3	4	5	6
2,0	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	mäßig
1,5	"	"	"	"	gering	0
1,0	"	"	"	"	0	0
0,5	"	"	"	"	0	0
0,2	"	inkomplett	"	inkomplett	0	0
0,1	stark	0	stark	0	0	0

Wie aus vorstehender Tabelle zu ersehen ist, blieben die Amboceptoren der Abgüsse von Röhrchen 1 und 3 fast vollkommen erhalten.

Die Amboceptoren in der Flüssigkeit von Röhrchen 2 und 4, zu denen ein durch Injektion der Organemulsion erhaltenes Hämolysin zugesetzt worden war, blieben zum größten Teil ungebunden in der Flüssigkeit.

Aus diesem Versuche geht hervor, daß beide Arten von Amboceptoren an die gleichen Receptoren der Blutkörperchen gebunden werden.

8. Zur Theorie der Hämolysinbildung durch Vorbehandlung der Tiere mit Organemulsionen.

Der Mechanismus der Hämolysinbildung in Tieren, welche mit Organemulsionen vorbehandelt worden waren, ist noch nicht klar, doch könnte man denselben wohl nach Ehrlichscher Theorie erklären. Nach dieser mußte man annehmen, daß die Hammelblutkörperchen und die Zelle der Organe, mit welchen die Kaninchen vorbehandelt wurden, gemeinsame haptophore Gruppen besitzen und die Zellen von Kaninchenorganen die zu diesen haptophoren Gruppen passenden Receptoren enthalten. In der Tat konnte man die Existenz dieser haptophoren Gruppen in vielen Organen durch spezifische Bindungsversuche in vitro nachweisen.

Forßmann hat auch bei seinen Versuchen Bildung des Antikörpers in vivo sowie Bindungen von Antikörper und Antigen in vitro bei einunddemselben Organ oft zusammengefunden; jedoch hat er auch Antikörperbildung durch Injektion derjenigen Organe, mit welchen Bindung von Amboceptoren in vitro nicht stattge-

funden hatte, beobachtet. Diese Tatsache sah er als einen Beweis dafür an, daß die Bindung von Antigen und Antikörper, wie es die Seitenkettentheorie verlangt, für die Antikörperbildung nicht notwendig ist.

Meine diesbezüglich ausgeführten Versuche bestätigen auch die von Forßmann angeführte Tatsache. Ich möchte indeß diese Tatsache dadurch erklären, daß die Avidität der in dem Antigen vorhandenen Receptoren in vitro und in vivo mehr oder weniger verschieden sein dürfte. In diesem Falle fehlt in vitro die Avidität der Receptoren, während dieselbe in vivo in Erscheinung tritt, wie meine frühere Arbeit[50] mit den in Serumbouillon fortgezüchteten Dysenteriebazillen zeigt.

Eine zweite Möglichkeit wäre, daß die Antikörperbildung in vivo durch die außerordentlich kleine Menge des Antigens erzeugt werden kann, was durch Bindungsversuche in vitro hingegen nicht mehr nachzuweisen ist; dem würde entsprechen, daß Friedberger und Dorner[35] z. B. in ihren Versuchen mit einer sehr kleinen Blutmenge ein starkes Hämolysin erhalten haben.

Die Frage, ob die durch Organinjektion erzeugte Hämolysinbildung als ein Vorgang zu betrachten ist, welcher durch eine in den injizierten Zellen befindliche Art von Sekretin hervorgerufen wird, wie Forßmann meint, werde ich in einer weiteren Arbeit schildern.

B. Über die Bildung des heterologen anaphylaktischen Reaktionskörpers.

In den weiteren Versuchen habe ich noch untersucht, ob die durch Organinjektion vorbehandelten Kaninchen gegen Hammelblutinjektion anaphylaktisch geworden waren.

Bei den Versuchen wurden die Kaninchen durch intraperitoneale oder intravenöse Injektion der Emulsion von den Organen, wie Gehirn, Milz u. a., welche von Meerschweinchen und Hunden stammten, vorbehandelt. Die Injektion wurde 2- bis 5mal vorgenommen. Am 15. bis 18. Tage nach der letzten Injektion wurden die Kaninchen durch intravenöse Injektion des Hammelblutes auf die Bildung des anaphylaktischen Reaktionskörpers geprüft.

Bei vielen Fällen wurde eine sehr ausgesprochene Anaphylaxie beobachtet. Die Kontrollversuche hingegen, welche mit unbehan-

delten Kaninchen ausgeführt worden waren, resultierten stets negativ.

Im folgenden führe ich einige Protokolle der positiv resultierten Versuche an:

Kaninchen Nr. 81.

Körpergewicht: 1500 g.

Vorbehandlung: 11. Mai, 5 ccm Emulsion von Meerschweinchenmilz intraperitoneal.

17. Mai die gleiche Dosis, intraperitoneal.

Blutentnahme: 31. Mai, Titerwert der hämolytischen Kraft des Serums für 1 ccm 5proz. Hammelblutaufschwemmung betrug 0,0025 ccm. (Die Titration des Serums geschah nach der bereits erwähnten Methode.) Am 1. Juni wurden 6 ccm 30proz. Hammelblutaufschwemmung intravenös injiziert. Sofort sehr starke Krämpfe, Sprünge und schwerste Dyspnoe. Stirbt nach 5 Minuten. Die Sektion zeigte mittelgradige Blähung und Starrheit der Lungen.

Kaninchen Nr. 97.

Körpergewicht: 2000 g.

Vorbehandlung: 20. August, 5 ccm Emulsion von Meerschweinchengehirn, intravenös.

22. August, gleiche Dosis, intravenös.

24. August, gleiche Dosis, intravenös.

Blutentnahme: 9. September, Titerwert der hämolytischen Kraft des Serums betrug 0,0005 ccm.

An demselben Tage wurden 6 ccm 30proz. Hammelblutaufschwemmung intravenös injiziert. Sofort starke Anaphylaxie, stirbt nach 5 Minuten.

Kaninchen Nr. 98.

Körpergewicht: 2500 g.

Vorbehandlung: 20. August, 5 ccm Emulsion von Meerschweinchengehirn, intraperitoneal.

22. August, gleiche Dosis, intraperitoneal.

24. August, gleiche Dosis, intravenös.

26. August, gleiche Dosis, intravenös.

Blutentnahme: 9. September, Titerwert der hämolytischen Kraft des Serums betrug 0,01 ccm.

An demselben Tage wurden 10 ccm 30proz. Hammelblutaufschwemmung intravenös injiziert.

Starke Anaphylaxie, stirbt nach 10 Minuten.

Kaninchen Nr. 90.

Körpergewicht: 1800 g.

Vorbehandlung: 30. Mai, 5 ccm Emulsion von Hundemilz, intraperitoneal.

4. Juni, gleiche Dosis, intraperitoneal.

9. Juni, gleiche Dosis, intraperitoneal.

Blutentnahme: 27. Juni, Titerwert der hämolytischen Kraft des Serums betrug 0,001 ccm.

An demselben Tage wurden 10 ccm 30proz. Hammelblutaufschwemmung intravenös injiziert.

Sofort heftige Sprünge und Dyspnoe, starb in der Nacht.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Kaninchen, welche mit Meerschweinchen- und Hundeorganen vorbehandelt worden waren, gegen Hammelblutinjektion überempfindlich geworden waren. Diese interessante Tatsache muß man wohl auf die Bildung des Reaktionskörpers zurückführen, welche durch Injektion der heterologen Organzellen hervorgerufen worden war.

Die Höhen der Titerwerte der hämolytischen Kraft der Sera und die Stärke der anaphylaktischen Symptome gingen nicht parallel.

Die eingehenden Untersuchungen über eine solche Anaphylaxie werde ich in einer weiteren Arbeit schildern.

Zusammenfassung.

1. Das Schildkrötenserum wirkt auf Kaninchenblut besonders stark, auf Hammelblut ziemlich stark, auf Meerschweinchenblut nur sehr gering und auf Menschenblut fast gar nicht hämolytisch.

2. Das Krötenserum wirkt auf Kaninchenblut besonders stark, auf Menschenblut ziemlich stark, auf Meerschweinchenblut nur gering und auf Hammelblut gar nicht hämolytisch.

3. Das Schildkröten- und Krötenserum wirkt im Gegensatz zum Warmblüterserum bei 0° ziemlich stark hämolytisch. Bei Anwendung kleiner Mengen von Schildkröten- oder Krötenserum trat bei 0° nach einer Stunde keine Hämolyse ein. Bei 37° zeigte das Schildkrötenserum starke hämolytische Kraft, wie bei Zimmertemperatur. Die hämolytische Kraft des Krötenserums war dagegen bei 37° schwächer als bei Zimmertemperatur; demnach wird das Krötenhämolysin bei 37° in seiner Wirkung geschädigt.

4. Durch Digerieren kleiner Mengen von Schildkröten- oder Krötenserum mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° wurden die Hämolysine der Sera in zwei Komponenten — Amboceptor und Komplement — geteilt.

5. Durch Digerieren des unverdünnten Schildkröten- oder Krötenserums mit den unverdünnten Kaninchenblutkörperchen bei 0° wurden die Hämolysine der Sera in zwei Komponenten gespalten.

Bei diesen Versuchen wurden jedoch einige Teile der Blutkörperchen aufgelöst und aus diesem Grunde war das so erhaltene amboceptorfreie Schildkröten- oder Krötenkomplement in seiner Wirkung ziemlich abgeschwächt.

6. Beim Digerieren kleiner Mengen von Schildkröten- oder Krötenhämolysin mit Kaninchenblutkörperchen in hypertonischer Kochsalzlösung wurden die Hämolysine auch in zwei Komponente getrennt.

7. Eine noch deutlichere Spaltung der Hämolysine ergab sich durch 1- oder 2maliges Digerieren des durch Zusatz von Kochsalz hypertonisch gemachten Serums (unverdünnt) mit unverdünnten Kaninchenblutkörperchen bei Zimmertemperatur.

8. Durch Digerieren des mit einer kleinen Kochsalzdosis vermischten Schildkröten- oder Krötenserums mit Kaninchenblutkörperchen bei 0° wurde ebenfalls eine Trennung der Hämolysine erreicht.

9. Nach vorstehenden 5 Methoden wurden die Hämolysine derart gespalten, daß eine Komponente der Hämolysine — der Amboceptor — an Blutkörperchen gebunden wurde, und die andere Komponente, — das Komplement — ungebunden in der Lösung geblieben war.

10. Das Schildkröten- und Krötenkomplement wurden sowohl durch Salzsäure- und Kohlensäuremethode, als auch durch Dialyse, in zwei Komponenten — Mittelstück und Endstück — gespalten, wie es beim Komplement von Warmblütern auch der Fall ist.

11. Das Schildkröten- und Krötenhämolysin entspricht also nicht dem Typus des echten Toxins im Sinne von Friedberger und Seerig, sondern es ist als komplexes Hämolysin anzusehen, welches aus drei Komponenten, nämlich Amboceptor, Mittelstück und Endstück besteht.

12. Durch ½ stündiges Erwärmen des Schildkrötenserums auf 48° verlor nur das Endstück seine Wirksamkeit, während das Mittel-

stück erst durch ½stündige Erwärmung bei 54° wirkungslos wurde. Bei Krötenserum wurde das Endstück bereits durch Erwärmen auf 42°, das Mittelstück aber erst bei 44° inaktiviert.

13. Der Amboceptor des Krötenserums verlor bereits durch ½stündiges Erwärmen bei 47° seine Wirksamkeit, während derjenige des Schildkrötenserums erst durch ½stündiges Erwärmen bei 60° zerstört wurde.

14. Das Schildkröten- und Krötenkomplement kann einander vertreten, während Warmblüterkomplement Schildkröten- oder Krötenkomplement nicht vertreten kann.

15. Das Schildkröten- und Krötenkomplement zeigte auf die mit Amboceptor beladenen Blutkörperchen keine komplettierende Wirkung.

Den Grund dieser Tatsache muß man darauf zurückführen, daß das Schildkröten- und Krötenkomplement für den Kaninchenamboceptor keine passende, bindende Gruppe enthält.

16. Das Schildkröten- und Krötenendstück kann einander vertreten.

17. Das Verhalten der Hämolysine von Schildkröten und Kröten bei wechselnder Konzentration zeigte eine genaue Übereinstimmung mit den mit Warmblüterhämolysin angestellten Versuchen.

18. Wechselnde Konzentration zeigte nicht nur auf Amboceptor- und Komplementwirkung, sondern auch auf die Bindung des Mittelstücks sowie auf die Wirkung des Endstücks einen großen Einfluß.

19. Eine bestimmte Menge des Endstückes löst außerordentlich große Mengen persensibilisierter Blutkörperchen, wie bestimmte Mengen des Gesamtkomplements ein großes Quantum sensibilisierter Blutkörperchen lösen.

20. Isoliertes Mittelstück wird beim Digerieren mit schwach sensibilisierten Blutkörperchen in hypertonischer Kochsalzlösung in seiner Bindung gehindert, während beim Digerieren mit stark sensibilisierten Blutkörperchen auch in hypertonischer Kochsalzlösung eine sehr gute Bindung eintritt.

21. Die Bindung des isolierten Mittelstückes bei 0° war bei schwach sensibilisierten Blutkörperchen etwas geringer als bei stark sensibilisierten, wie beim Versuche mit Gesamtkomplement.

22. Das Mittelstück des Meerschweinchenkomplements ist, sei es im Gesamtkomplement, sei es an Blutkörperchen gebundenes,

sei es isoliertes, fast immer gleichmäßig thermostabil, während das Endstück stets thermolabil ist.

Das in 0,85proz. Kochsalzlösung gelöste, isolierte Mittelstück erwies sich dagegen sehr thermolabil.

23. Die Regeneration des durch Erwärmen abgeschwächten Komplements geschah in Bestätigung der Angabe von Gramenitzki bei 37° schneller und ausgesprochener als bei Zimmertemperatur. Bei zu langer Aufbewahrung des Komplements nimmt die schon einmal regenerierte, komplettierende Kraft wieder ab. Bei stark inaktiviertem Komplement konnte man keine nennenswerte Erneuerung beobachten.

24. Die Modifikation der Globulinfraktion des Komplements tritt bei mäßiger (ca. 37° bis 40°) Temperatur weit schneller als bei niedriger ein.

25. In hypertonischer Kochsalzlösung, wie in salzfreier Lösung zeigte sich keine Modifikation der Globulinfraktion des Komplements, während in 0,85proz. Kochsalzlösung eine solche schnell eintrat.

26. In Bestätigung der Angabe von Thomsen und Leschly erfolgte die Modifikation des Mittelstückes in konzentrierter Lösung viel schneller als in verdünnter. Auch das von einem schwach verdünnten Serum gewonnene Mittelstück wurde schneller umgebildet als das von stark verdünntem Serum gewonnene.

27. Der bei der Modifikation der Globulinfraktion gebildete antikomplementäre Körper wird in mittelstückfreier und in mittelstückhaltiger Globulinlösung gleichmäßig gebildet.

28. Durch Entfernen des Mittelstücks von der umgebildeten Globulinlösung wird ihre hemmende Kraft nicht abgeschwächt.

29. Der hemmende Körper der modifizierten Globulinlösung steht in seiner Entstehung sowie in seiner Wirkung mit dem sogenannten Mittelstück in keiner Beziehung.

30. Der hemmende Körper der Globulinlösung wird durch ½stündige Erwärmung bei 56° fast vollkommen zerstört.

31. Durch ½stündige Erwärmung (bei 56°) der Globulinfraktion des Komplements wird kein hemmender Körper gebildet.

32. Die 30 Minuten bei 56° erhitzte Globulinlösung besitzt keine Fähigkeit mehr, einen hemmenden Körper zu bilden.

33. Die durch ½stündige Erwärmung bei 56° erhaltene Inaktivierung der Kochsalz-Globulinfraktion ist als Zerstörung des Mittelstückes selbst anzusehen, ein Unterscheidungsmerkmal zwi-

schen der Brandschen Modifikation des Mittelstücks und der Aktivierung des Mittelstücks durch Erhitzen bei 56°.

34. Bei dem Ablauf der ersten Phase der Wassermannschen Reaktion im Brutschrank sowie in der Kälte war das Resultat bei den meisten Seris übereinstimmend. Bei einigen war die Reaktion bei 37° stärker als bei 0°, während bei anderen dieselbe bei 0° stärker als bei 37° war. Einige Sera zeigten in Übereinstimmung mit den Befunden von Guggenheimer qualitative Unterschiede, die einen waren nur bei 37°, die andern nur bei 0° positiv.

35. Bei Ausführung der Wassermannschen Reaktion muß man außer der gewöhnlichen bei 37° auszuführenden Methode auch noch die Kältemethode in paralleler Weise prüfen.

36. Das Verhalten der Kälte auf die durch Bakterienextrakte und Krankensera bestehende Komplementbindung ist von dem Verhalten auf die Wassermannsche Reaktion verschieden.

37. Durch Vorbehandlung der Kaninchen mit den Emulsionen verschiedener Organe von Schildkröten, Kröten und Tauben wurde ein ziemlich starkes Hämolysin erhalten, welches auf Hammelblut einwirkte, während durch Injektion der Blutkörperchen von Schildkröten, Kröten und Tauben kein solches Hämolysin gebildet wurde. Durch Injektion von Schildkröteneigelb wurde auch ein Hämolysin gewonnen, welches jedoch nur sehr schwach war.

38. Die verschiedenen Organe von Hunden, Meerschweinchen und Katzen zeigten, daß auch an Kaninchen eine Hämolysinbildung erzeugt werden kann, während Rinderorgane keine oder eine nur sehr schwache Hämolysinbildung hervorriefen.

39. Im allgemeinen wurden durch Injektion von Gehirn und Milz besonders starke Hämolysinbildungen hervorgerufen. Durch Injektion anderer Organe wurden teils sehr starke und teils nur sehr schwache Hämolysinbildungen verursacht; dieses Verhalten der einzelnen Organe variierte bei verschiedenen Tieren ziemlich beträchtlich.

40. Die Hämolysinkuren der Sera von Kaninchen, welche mit Organemulsionen vorbehandelt wurden, blieben im allgemeinen 3 bis 4 Tage nach der ersten Injektion auf der Norm und stiegen dann mehr oder weniger rasch. In vielen Fällen erreichten sie am 8. bis 12. Tage ihr Maximum, um dann zuerst verhältnismäßig schnell und dann wieder allmählich zu fallen.

41. Die Intensität der Hämolysinbildung durch Injektion der Organemulsionen ist von den Arten der Tiere und Organe, dem

Grade des Zerreibens der Organe, den Mengen der injizierten Organemulsionen, der Individualität der einzelnen Kaninchen, welche mit Organemulsionen vorbehandelt worden waren, u. a. mehr sehr abhängig.

42. Die durch Vorbehandlung der Kaninchen mit Organemulsionen erhaltenen Sera vermögen nur Hammelblutkörperchen zu lösen.

43. Die antikörpererregende Substanz der Organe ist nicht durch Alkohol extrahierbar.

44. Je höher die Temperaturgrade sind, desto stärker wurde die antikörpererregende Substanz der Organzellen zerstört.

45. Bei Vorbehandlung der Kaninchen mit Kaninchenorganen wurde keine Hämolysinbildung beobachtet.

46. Die durch Organinjektion erhaltenen Hämolysine haben die Konstitution der komplexen Hämolysine.

47. Durch Organinjektion erhaltene Hämolysine wurden durch $^1/_2$stündige Erwärmung bei 56° inaktiviert. Die Amboceptoren sind dermaßen thermostabil, daß sie sogar durch $^1/_2$stündiges Erwärmen bei 63° nicht beschädigt werden.

48. Die Amboceptoren wurden bei 37° und 0° sowie in saurem Phosphatgemisch und in hypertonischer Kochsalzlösung sehr gut an Blutkörperchen gebunden, wie gewöhnliches durch Blutinjektion erhaltenes Hämolysin.

49. Die Bindung von Mittelstück an die Blutkörperchen, welche mit den durch Organinjektion erhaltenen Amboceptor beladen war, trat bei 37° ziemlich gut hervor, während sie bei 0°, in sauren Medien und in hypertonischer Kochsalzlösung schwerer vonstatten ging, als an die Blutkörperchen, welche mit den durch Blutinjektion erhaltenen gewöhnlichen Amboceptoren beladen waren.

50. Die durch Organinjektion erhaltenen Hämolysine können mit gutem Erfolge für die Wassermannsche Reaktion sowie für die Komplementbindung in Anwendung gebracht werden.

51. Die durch Organinjektion erhaltenen Amboceptoren und die durch Hammelblutinjektion erhaltenen werden an die gleichen Receptoren von Blutkörperchen gebunden.

52. Der Mechanismus der Hämolysinbildung in den durch Organinjektion vorbehandelten Tieren kann sehr wohl nach der Ehrlichschen Theorie erklärt werden, durch die Annahme, daß die Zellen vor verschiedenen Organen und die roten Blutkörperchen vom Hammel zum Teil gemeinsame haptophore Gruppen besitzen.

53. Die durch Organinjektion vorbehandelten Kaninchen waren gegen Hammelblutinjektion überempfindlich, während die Kontrolltiere gar keine Reaktion zeigten.

54. Diese Tatsache müßte auf die Bildung des anaphylaktischen Reaktionskörpers, welcher durch Injektion der Organe hervorgerufen worden war, zurückgeführt werden.

Literaturverzeichnis.

1. Friedberger und Seelig, Zentralblatt für Bakt. usw., 1. Abt., Bd. 46, 1908.
2. Noguchi, Bulletin from the University of Pennsylvania. 1902 und 1903. Zentralblatt für Bakt. usw., 1. Abt., Bd. 34, 1903.
3. Lazar, Wiener klin. Wochenschr. 1904.
4. Markl, Zeitschr. für Hygiene, Bd. 39, 1902.
5. Ehrlich und Morgenroth, Berliner klin. Wochenschr. 1899—1901.
6. Sachs und Bolkowska, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 7, 1910.
7. Hekton und Ruediger, The Journ. of infectious diseases. 1904, Vol. 1.
8. Sachs und Altmann, Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätforschung, Bd. 2. Berliner klin. Wochenschr. 1908.
9. Ferrata, Berliner klin. Wochenschr. 1907, Nr. 13.
10. Wechsburg, Wiener klin. Wochenschr. 1902.
11. Moreshi, I. Tagung der freien Vereinigung f. Mikrobiologie 1906.
12. Landsteiner, IV. Tagung der freien Vereinigung f. Mikrobiologie 1910.
13. Liefmann und Cohn, Zeitschr. f. Immunitätforschung, Bd. 6, 7 und 8.
14. Liefmann, Berliner klin. Wochenschr. 1911.
15. Derselbe, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 11, 1911.
16. Liefmann und Andreew, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 11, 1911.
17. Marks, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 8, 1911.
18. Metschnikoff, Annales de l'institut Pasteur 1900, T. 14.
19. Fraenkel, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 8, 1911.
20. Derselbe, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 10, 1911.
21. V. Liebermann, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 12.
22. Skwirsky, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 5, 1911.
23. Kiß, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 3, 1909.
24. Scheller, Zentralblatt für Bakt., 1. Abt., Org., Bd. 56.
25. v. Dungern und Hirschfeld, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 10, 1911.
26. Guggenheimer, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 11, 1911.
27. Tsurusaki, Biochemische Zeitschr. 1908, Bd. 10.
28. Hecker, Arb. a. d. Königl. Institut f. exp. Therapie, 1911.

29. Brand, Berliner klin. Wochenschr. 1907, Nr. 34.
30. Friedemann, Zeitschr. für Hygiene, Bd. 67, 1910.
31. Levaditi und Mutermilch, Compt. rend. Soc. Biol. 1911.
32. Michaelis und Skwirsky, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 4, 1910.
33. Amako, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 8, 1911.
34. Gramenitzki, Biochemische Zeitschr., Bd. 39, 1912.
35. Friedberger und Dorner, Zentralblatt f. Bakt., 1. Abt., Bd. 38.
36. Marks, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 11, 1911.
37. Braun, Biochemische Zeitschr. Bd. 31, 1911.
38. Thomsen und Leschly, Zeitschr. f. Immunitätforschung, Bd. 11, 1911.
39. Jacobsthal, Münchn. med. Wochenschr. 1910, Nr. 13.
40. Guggenheimer, Münchn. med. Wochenschr. 1911, Nr. 26.
41. Shiga, Zeitschr. für Hygiene, Bd. 60, 1908.
42. Amako, Zeitschr. für Hygiene, Bd. 60, 1908.
43. Leuchs, Zeitschr. für Hygiene, Bd. 60, 1908.
44. Posselt und Sagasser, Arch. für Hygiene, 51, 1904.
45. Marshall, The Journal experimental medicine, 1905, Vol. 6.
46. v. Dungern, Münchn. med. Wochenschr. 1899.
47. Moxter, Deutsche med. Wochenschr. 1900.
48. Forßmann, Biochemische Zeitschr., Bd. 37, 1911.
49. Brezina, Münchn. med. Wochenschr. 1907.
50. Amako, Zeitschr. für Immunitätforschung, Bd. 5, 1910.

Aus der Biologischen Abteilung des Georg Speyer-Hauses in Frankfurt a. M.
(Direktor: Exzellenz Wirkl. Geh.-Rat Prof. Paul Ehrlich.)

Über Neosalvarsan.

Bestimmung der Toxizität und der heilenden Wirkung bei experimentellen Spirochätenkrankheiten.

Von

Dr. med. **G. Castelli,**
Assistent am Georg Speyer-Haus.

Mit einer Lichtdrucktafel.

Bei der praktischen Verwendung des von den Höchster Farbwerken unter dem Namen „Salvarsan“ in den Handel gebrachten Dioxydiamidoarsenobenzols dürften einige Nachteile der Schwierigkeit bei der Herstellung der zu injizierenden Lösung zugeschrieben werden. Auch der Zusatz von Natronlauge ist ein Verfahren, welches Störungen hervorrief, die durchaus mit Unrecht dem Medikament zugeschrieben werden. So wurden vielfach zahlreiche Versuche gemacht, das Mittel auf eine bequemere Anwendungsform zu bringen. S. Exzellenz Herr Geheimrat Prof. Dr. Ehrlich hat sich seit langem damit beschäftigt, diese störenden Ursachen zu beseitigen und hat in dem Neosalvarsan, einem Kondensationsprodukt des Dioxydiamidoarsenobenzols mit Hyraldit, ein Medikament hergestellt, das sich als ein gelbes, in Wasser leicht lösliches Pulver von neutraler Lösung zeigt. 1 g Neosalvarsan entspricht 0,66 g Salvarsan. Unter der Leitung Sr. Exzellenz Prof. Ehrlich habe ich eine Reihe von Versuchen angestellt, um an der Maus, am Huhn, an Tauben und am Kaninchen den Grad der Toxizität von Neosalvarsan festzustellen, und die Heilwirkung bei Recurrens der Maus, bei der Hühnerspirillosis und bei der Syphilis des Kaninchens zu erproben.

Bei diesen Versuchen mußten die Zahlen, welche sich auf die Toxizität und Wirkung des Neosalvarsans beziehen, mit jenen des Salvarsans verglichen werden; es würde jedoch ein Irrtum sein, wenn man sich bei einem derartigen Vergleich bezüglich des Sal-

varsans ohne weiteres auf die klassischen Befunde Hatas[1]) berufen wollte, obgleich ich im Speyer-Haus noch dieselben Stämme verwendet und mich genau an dieselbe Technik gehalten habe. Es kann in der Tat der gleiche Stamm im Laufe der Zeit durch aufeinanderfolgende Passagen seine Virulenz und den Grad seiner Resistenz gegen ein und dasselbe Medikament derart modifizieren, daß man einen Vergleich nicht anstellen kann über die Wirkung eines neuen mit einem schon seit langem erprobten Mittel, wenn man nicht wenigstens in den Grundzügen die ursprünglichen Erfahrungen gleichzeitig wiederholt. Von diesen Erwägungen ausgehend, habe ich den Versuchen über das Neosalvarsan, Untersuchungen über die Toxizität des gegenwärtig im Handel befindlichen Salvarsans und seine Wirkung auf Stämme von gleicher Virulenz vorausgeschickt.

Kersten[2]) hat vor kurzem eine Arbeit über dieses Thema veröffentlicht. Da meine Ergebnisse nicht ganz mit den von Kersten erzielten Resultaten übereinstimmen, will ich hier ohne weiteres die einzelnen Protokolle der Versuche folgen lassen.

Toxizitätsprüfung.

a) bei den Mäusen.

Die Dosis tolerata des Dioxydiamidoarsenobenzols für eine Maus von 15 g ist bei subkutaner Injektion 0,75 ccm einer Lösung von $^1/_{200}$. Leichte Schwankungen ergeben sich bei den verschiedenen Forschern und können je nach dem verwendeten Tiermaterial und den kleinen Abweichungen in der Herstellung der Lösung erklärt werden. So finden die Angaben von Hata, nach denen die Dosis tolerata 0,75 ccm einer Lösung von $^1/_{300}$ ist, und vielleicht auch noch jene von Kersten (wonach die Dosis tolerata in einigen Fällen 0,75 ccm einer Lösung von $^1/_{400}$ ist) ihre Erklärung in der Menge der zugesetzten Natronlauge. Die im Speyer-Haus von Fräulein Leupold (uned.) angestellten Versuche haben klar bewiesen, daß die Toxizität dieses Mittels beträchtlich steigt, wenn die Natronlauge in größerer Menge als gewöhnlich zugesetzt wird. Die tausendfach ausgeführten Versuche zur Bestimmung der Toxizität jeder Operationsnummer des Salvarsans gestatten die Behauptung,

---

[1]) In Ehrlich und **Hata**, Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen. Berlin, Springer, 1910.

[2]) Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene, Bd. 16, Beiheft 4, 1912 und Zentralbl. f. Bakter., Orig. Band 65. Heft 4/5, 1912.

daß 0,75 ccm einer Lösung von $^1/_{200}$ des Dioxydiamidoarsenobenzols, subkutan injiziert, von jeder jungen, normalen, 15 g schweren Maus vertragen wird. Die subkutane Injektion einer Lösung von $^1/_{180}$ führt bei $^1/_8$ der injizierten Tiere zum Tod. Das ist die Toxizitätsgrenze.

Keine Salvarsanpräparate befinden sich zurzeit im Handel, deren Toxizität diese Grenze übersteigt.

Die in alkalischer Lösung vertragene Dosis von Salvarsan ist geringer, wenn die Darreichung auf intravenösem Wege erfolgt. Eine 15 g schwere Maus verträgt so die Injektion von 0,75 ccm einer Lösung von $^1/_{350}$.

Das Hyraldit wird von dem Organismus der Maus gut vertragen. Es kann einer 15 g schweren Maus in einer Dosis von 0,75 ccm einer Verdünnung von $^1/_{20}$ unter die Haut oder in einer fast gleichen Menge direkt in den Blutkreislauf injiziert werden.

In der Tabelle I fasse ich die Resultate aller Versuche zusammen, die zur Feststellung der Toxizität des Neosalvarsans bei der Maus gemacht wurden, und zwar bei subkutaner und intravenöser Injektion.

Bei dieser und den folgenden Tabellen gebe ich der Kürze halber die Protokolle nur von jenen Tieren, welche die Grenze bestimmen. Die Dosen des injizierten Neosalvarsans sind in der ersten horizontalen Zeile als solche angegeben, in der zweiten werden sie auf ihren Dioxydiamidoarsenobenzolgehalt berechnet. In der Tabelle I ist der Konzentrationsgrad der jeder Maus injizierten Lösung in konstantem Verhältnis von 0,75 ccm zu je 15 g Gewicht der Tiere angegeben.

Aus der Tabelle I ergibt sich, daß das Neosalvarsan für die Maus bei einer subkutanen Darreichung giftiger wirkt als das Salvarsan in alkalischer Lösung. Die Dosis tolerata von Dioxydiamidoarsenobenzol ist in der Tat bei den jungen, normalen, 15 g schweren Mäusen unter der Form von Salvarsan 0,00375 g, unter der Form von Neosalvarsan 0,001275 g. Die Maus verträgt dagegen eine größere Menge Dioxydiamidoarsenobenzol unter der neuen Anwendungsform, wenn es auf intravenösem Weg gegeben wurde. 0,75 ccm einer Verdünnung von $^1/_{132}$ Neosalvarsan (enthält 0,00375 g Dioxydiamidoarsenobenzols) wird von jungen, normalen, 15 g schweren Mäusen auf intravenösem Weg immer gut vertragen. 0,75 ccm einer Verdünnung von $^1/_{120}$ Neosalvarsan (enthält 0,0041625 g Dioxydiamidoarsenobenzols) bildet die Toxi-

Tabelle I.

Toxizitätsbestimmung des Neosalvarsans bei Mäusen (von 15 g Gewicht).

a) durch subkutane Injektion

Maus Nr.	1	2	3	4	5	6
erhält subkutan 0,75 ccm einer Verdünnung . .	1 : 400	1 : 333	1 : 333	1 : 266	1 : 266	1 : 230
= Dioxydiamidoarsenobenzol	1 : 600	1 : 500	1 : 500	1 : 400	1 : 400	1 : 300
1. Tag nach der Injektion	munter, glatt	krank, zittert	krank, zittert	krank	krank, zittert	tot
2. Tag nach der Injektion	munter	munter	tot	schw. krank, am 3. Tag tot	munter	—

b) durch intravenöse Injektion

Maus Nr.	1	2	3	4	5
erhält intravenös 0,75 ccm einer Verdünnung . .	1 : 132	1 : 132	1 : 120	1 : 120	1 : 120
= Dioxydiamidoarsenobenzol	1 : 200	1 : 200	1 : 180	1 : 180	1 : 180
1. Tag nach der Injektion	munter	munter	munter	munter	tot
2. Tag nach der Injektion	munter	munter	munter	munter	—

zitätsgrenze. Auch letztere Dosis wird häufig, aber nicht ausnahmslos von den 15 g schweren Mäusen gut vertragen. Das beweisen die zahllosen Versuche, die zur Festsetzung der Toxizität der verschiedenen Operationsnummern des Neosalvarsans im Speyer-Haus angestellt wurden.

Bei der Anwendung von Neosalvarsan sind gewisse Umstände von größter Wichtigkeit. Jetzt schon soll daran erinnert werden, daß bei diesem neuen Präparat neben dem erforderlichen frisch destillierten Wasser auch auf den Autoxydationsprozeß sehr wohl zu achten ist. Tatsächlich hat schon Ehrlich mitgeteilt, daß eine Lösung Neosalvarsan, die in freier Luft stehen blieb, für die Maus viel schneller giftige Eigentümlichkeiten annimmt, als eine Lösung Salvarsan. Nach den Versuchen von Fräulein Leupold (uned.) verträgt eine 15 g schwere Maus gut die intravenöse Injektion von 0,005625 g einer ganz frischen Lösung Neosalvarsans. Wenn aber diese zwei

Stunden lang in breiter Oberfläche in freier Luft gelassen wird, stirbt eine Maus von gleichem Gewicht schon infolge einer intravenösen Injektion von 0,000945 g. Die Toxizität dieses Präparates bei der Maus ist daher 6 mal größer geworden durch die einfache Tatsache, daß die Lösung in freier Luft stehen blieb.

Aus den bisher auseinandergesetzten Versuchen über die Toxizität von Neosalvarsan im Vergleich zur Toxizität von Dioxydiamidoarsenobenzols bei einer Maus ergibt sich, daß die Maus eine geringere Quantität Dioxydiamidoarsenobenzol unter der Form von Neo- als unter jener von Salvarsan verträgt, wenn dieses subkutan injiziert wird und eine größere Quantität, wenn die Darreichung direkt in den Blutkreislauf erfolgt. Dieses verschiedene Verhalten der Toxizität je nach der Applikation des Mittels werden wir noch, wenn auch nicht in so deutlichen Verhältnissen, beim Huhn, bei Tauben und beim Kaninchen auftreten sehen; das liegt an der Oxydationsmöglichkeit des Mittels in den tierischen Geweben.

b) bei den Hühnern.

Die von einem 1 kg schweren Huhn vertragene Dosis von Salvarsan in alkalischer Lösung (auf intramuskulärem Weg) ist 0,25 g, die vertragene Dosis Neosalvarsan dagegen 0,15 g. Erfolgt die Darreichung auf intravenösem Weg, so ist die von einem 1 kg schweren Huhn vertragene Dosis 0,08 g sowohl für Salvarsan in alkalischer Lösung als auch für Neosalvarsan.

Tabelle II.

Toxizitätsbestimmung des Neosalvarsans bei Hühnern.

	a) durch intramuskuläre Injektion			b) durch intravenöse Injekt.		
Huhn Nr.	1	2	3	4	5	6
Gewicht g	1450	1250	1370	1420	990	1270
erhält pro Kilo	0,15	0,175	0,2	0,08	0,09	0,1
= Dioxydiamidoarsenobenzol	0,1	0,115	0,132	0,054	0,06	0,067
am 1. Tage nach der Injekt.	1450	tot	tot	1370	960	tot
am 2. Tage nach der Injekt.	1410	—	—	1490	1000	—
am 3. Tage nach der Injekt.	1450	—	—	1470	1020	—

Die Dosis tolerata des Dioxydiamidoarsenobenzols für das Huhn, wenn das Mittel als Neosalvarsan dargereicht wird, ist also von 0,1 g bei intramuskulärer und 0,06 g bei intravenöser Injektion.

Beim Huhn ist das Neosalvarsan giftiger als das Salvarsan, und diese Steigerung der Toxizität tritt besonders hervor, wenn die Injektion intramuskulär erfolgt: (tatsächlich sind die auf intravenösem Weg vertragenen Dosis ungefähr $^{3}/_{4}$, intramuskulär nur $^{2}/_{5}$ der entsprechenden vertragenen Dosis von Salvarsan).

c) bei den Tauben.

Ich fasse in den Tabellen III und IV die Versuche zusammen, die zur Toxizitätsbestimmung des Dioxydiamidoarsenobenzols für Tauben gemacht wurden, sowohl als Salvarsan als auch als Neosalvarsan. In dem einem wie in dem anderen Falle habe ich einige Tiere tief in die Kielmuskulatur injiziert und andere in die Flügelvene. Bei einem Vergleich der Zahlen dieser Tabellen sieht man, daß die Taube intramuskulär eine kleinere, intravenös eine größere Dosis von Neosalvarsan als von Salvarsan verträgt.

Tabelle III.

Toxizitätsbestimmung des Salvarsans bei Tauben.

	a) durch intramuskuläre Injektion				b) durch intrav. Inj.		
Taube Nr.	1	2	3	4	5	6	7
Gewicht g	300	400	240	290	350	300	290
erhält pro kg	0,08	0,1	0,1	0,12	0,06	0,06	0,08
am 1. Tage nach der Inj.	munter	tot	munter	tot	munter	munter	tot
am 2. Tage nach der Inj.	munter	—	munter	—	munter	munter	—

Tabelle IV.

Toxizitätsbestimmung des Neosalvarsans bei Tauben.

	a) durch intramuskuläre Injektion			b) durch intravenöse Injekt.		
Taube Nr.	1	2	3	4	5	6
Gewicht g	260	270	310	250	270	370
erhält pro Kilo	0,06	0,08	0,09	0,13	0,14	0,14
= Dioxydiamidoarsenobenzol	0,04	0,053	0,06	0,087	0,095	0,095
am 1. Tage nach der Injekt.	250	tot	tot	230	230	tot
am 2. Tage nach der Injekt.	250	—	—	250	240	—
am 3. Tage nach der Injekt.	260	—	—	230	220	—

d) bei den Kaninchen.

Die Dosis tolerata Salvarsan in alkalischer Lösung für 1 kg schwere Kaninchen ist bei intravenöser Injektion 0,1 g. Auf

intravenösem Weg ist eine große Quantität Hyraldit und zwar bis zu 1,37 g pro Kilo Gewicht zulässig. Auch das Neosalvarsan wird gut vertragen. Ich bringe in der Tabelle V die Angaben über einige Tiere, denen ich 0,3 g Neosalvarsan (entsprechend 0,2 g Dioxydiamidoarsenobenzol) in Aqua destillata gelöst in die Randader des Ohres injiziert habe. Die Beobachtung des Gewichtes der Kaninchen an den folgenden Tagen zeigt, daß das Mittel in solcher Dosis ohne irgendwelche Störung vertragen werden kann.

Tabelle V.

Toxizitätsbestimmung des Neosalvarsans bei Kaninchen.

	a) intravenös							b) subkutan			
Kaninchen Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Gewicht g	1500	1415	1380	2090	1890	1800	2130	1100	1020	2120	1300
erhält pro kg	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,15
= Dioxydiamidoarsenobenzol	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,123	0,123	0,123	0,1
1. Tag nach der Injektion	1510	1490	1550	2150	1850	1780	2110	1010	1020	2100	1240
2. „ „ „ „	1600	1510	1450	2090	1800	1720	2090	tot	990	2000	1250
3. „ „ „ „	1600	1480	1440	2200	1810	1680	2040	—	940	1900	1150
4. „ „ „ „	1540	1470	1420	2300	1800	1750	1980	—	tot	1650	1050
5. „ „ „ „	1580	1420	1420	2270	1780	1770	1990	—	—	1520	970
6. „ „ „ „	1510	1350	1420	2300	1850	1760	1990	—	—	1520	tot
7. „ „ „ „	1590	1380	1470	2290	1900	1810	1970	—	—	1550	—
8. „ „ „ „	1540	1330	1440	2320	1880	1740	1940	—	—	1550	—
9. „ „ „ „	1580	1300	1460	2300	1800	1760	1900	—	—	1530	—
10. „ „ „ „	1690	1420	1450	2340	1850	1760	1940	—	—	—	—
11. „ „ „ „	1600	1420	1450	2320	1850	1790	2000	—	—	—	—

Aus Tabelle V geht hervor, daß das Kaninchen auf intravenösem Weg die Injektion von 0,3 g (pro Kilo) Neosalvarsan verträgt, d. h. 0,2 g Dioxydiamidoarsenobenzol. Das ist das Doppelte der erträglichen Dosis von Salvarsan in alkalischer Lösung.

Die Dosis von 0,3 g Neosalvarsan pro Kilo führt aber den Tod des Kaninchens herbei bei subkutaner Darreichung. In diesem Fall geht die Dosis tolerata bis unter 0,15 g zurück.

Bei der Verwendung von Neosalvarsan dürfen vor allem zwei Faktoren nicht übersehen werden: von größter Bedeutung ist der Gebrauch frisch destillierten Wassers, sowie einer

solchen Technik, die eine Autoxydation zu verhindern imstande ist.

Auf die dringende Notwendigkeit der Verwendung nur frisch destillierten Wassers für die Lösung des Dioxydiamidoarsenobenzols hat zuerst Wechselmann hingewiesen. Seine Angaben werden noch durch die experimentellen Versuche Yakimoffs, Gonders, Th. Müllers, Mac Intoshs und Fildes unterstützt. Die Nachteile der Wasserfehler hat ferner Ehrlich[1]) kürzlich besprochen: er unterscheidet klinisch zwei Arten derselben: einen „perniziösen", durch den alle injizierten Personen lang und schwer erkranken, und einen „gewöhnlichen", der viel milder verläuft und nur vorübergehende Erscheinungen hervorbringt.

Ich habe oben die Versuche von Fräulein Leupold angeführt, wonach die Toxizität des Neosalvarsans für die Maus sich 6 mal vergrößert, wenn die Lösung zwei Stunden in freier Luft gelassen wird. Nun füge ich noch hinzu, daß das Oxydationsprodukt des Neosalvarsans auch beim Kaninchen giftig wirkt, und es bildet sich schon, wenn die Lösung auch nur wenige Minuten stehen gelassen wird.

Ich kann die Berichte aller jener Kaninchen weglassen, welche das unzweifelhaft beweisen. Mir genügt, hier anzuführen, daß, solange ich bei Neosalvarsan dieselbe Technik wie bei alle andere geprüfte Mittel anwandte (bei einer zweimaligen Umgießung der Lösung, Messung der Quantität derselben mittels einer Pipette, Aufsaugung und Injektion mit der gewöhnlichen Rekordspritze), die Dosis tolerata nur 0,08 g pro Kilo betrug. Eine höhere Dosis führte fast ohne Ausnahme zu einer ständigen Gewichtsabnahme der Tiere, zu verminderter Freßlust, zu Durchfällen und in kurzen Zeiträumen zum Tod: erst seitdem ich besondere Aufmerksamkeit darauf verwendet habe, daß die Lösung nicht mit der Luft in Berührung kommt, nicht einmal nur ganz kurze Zeit, habe ich die in Tabelle Va angegebenen Resultate erzielt. Noch einige Injektionen wurden später vorgenommen, um die Giftwirkung zu beobachten beim Gebrauch der gewöhnlichen Rekordspritze und beim Stehenlassen der Lösung an der Luft.

Einigen Kaninchen habe ich die Dosis von 0,3 g und anderen 0,25 g Neosalvarsan pro Kilo intravenös gegeben. Die Lösung wurde sofort nach der Herstellung mittels einer gewöhnlichen Re-

---

[1]) Zeitschrift für Chemotherapie, Originale, Bd. I, Heft 1, 1912.

kordspritze intravenös injiziert. Bei diesen Tieren hat 0,3 g pro Kilo immer den Tod am 2. oder 3. Tage nach der Injektion zur Folge gehabt. Auch eine Dosis von 0,25 g pro Kilo hat mit seltenen Ausnahmen den Tod des Kaninchens wenige Tage nach der Injektion hervorgerufen. Diese Resultate haben mich auf den Gedanken gebracht, daß die Luft, mit welcher das Mittel während der Aufsaugung der Lösung in die Spritze in Berührung gebracht wird, schon genügt, um die Toxizität dieses Medikamentes bedeutend zu steigern. Ferner habe ich eine Lösung präpariert und einen Teil derselben sofort nach der Herstellung mittels des unten beschriebenen Apparates den Kaninchen Nr. 6 und 7 der Tabelle V in der Dosis von 0,3 g pro Kilo intravenös injiziert. Den übrigen Teil habe ich 10 Minuten an der Luft gelassen und dann einem anderen Kaninchen in einer Dosis von 0,2 g pro Kilo intravenös eingegeben. Dieses letztere Tier starb trotz der geringeren Menge des eingeführten Mittels am ersten Tage nach der Injektion, während die beiden anderen die größere Quantität ganz gut vertragen haben.

So kann man die experimentellen Befunde von Marschalko[1]) erklären, welcher beobachtet hat, daß die Kaninchen infolge einer Injektion von 0,2 g Neosalvarsan ausnahmslos sterben und nur 50% der mit 0,15 g pro Kilo eingespritzten Tiere am Leben bleiben.

Um so viel als möglich eine Autoxydation des Mittels zu verhindern, bediene ich mich eines Meßzylinders mit einer Ausflußöffnung, die nach unten in eine schmale, in der Mitte etwas verengte Spitze endet, wo der „O", Teilstrich, angebracht ist. Letztere steht mit einem kurzen Gummischlauch mit der Kanüle in Verbindung. Innerhalb des Meßzylinders ist ein konkaves durchlöchertes Glassieb. Erst gieße ich destilliertes, aus der Apotheke stammendes Wasser ein, welches ich am gleichen Tage mittels eines leicht sterilisierenden Apparates nochmals destilliert habe: Nachdem ich nun einen Klemmer auf den oberen Teil des Gummischlauches aufgesetzt habe, schütte ich das Neosalvarsan hinzu und rühre die Flüssigkeit mit einem Glasstabe oder einer Pipette auf dem Boden des Gefäßes um, so daß ich ohne Umschütteln eine homogene Lösung erhalte. Dann schließe ich die obere Öffnung des Zylinders mit einem Gummistöpsel und injiziere unter leichtem Druck die Lösung, welche nach Entfernung des Klemmers bis in

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 34.

die Kanüle vorgedrungen ist, in die Randader des Ohres eines vorher präparierten Kaninchens, wobei ich darauf achte, daß der obere Teil der Flüssigkeit nicht eingespritzt wird. Auf diese Weise wird eine Berührung der Lösung mit der Luft möglichst vermieden.

Nach meiner Ansicht wird man wohl auf diese Vorsichtsmaßregeln achten müssen, schon deshalb, weil aus der ersten über Neosalvarsan publizierten Arbeit[1]) hervorzugehen scheint, daß in der Verzögerung der Autoxydationsprozesse ein Vorteil des Neosalvarsans zu erblicken sei, und ich glaube, daß *die meisten Mißstände, die man bei der praktischen Anwendung dieses Mittels schon zu beklagen hat, und noch zu beklagen haben wird, der Autoxydation zuzuschreiben sein werden.* Dieselbe ist in den ersten Stadien durch keine Veränderung, weder durch Farbe, noch durch Reaktion der Lösung wahrnehmbar.

Die oben erwähnten Versuche zeigen, daß in der Praxis die größte Sorgfalt beobachtet werden muß, um alle schädliche Ursachen fernzuhalten. Es wäre beispielsweise ein großer Fehler, die Lösung herzustellen, bevor der Patient vollständig für die Einspritzung bereit ist, oder für mehrere Patienten nacheinander ein und dieselbe Lösung zu verwenden. Für die Injektion scheint mir eine Technik mit mäßigem Druck vorzuziehen zu sein, damit die Flüssigkeit weniger langsam einfließt. Man darf auch nicht die Teile der Lösung einspritzen, welche oben sitzen und deshalb mit der Luft in Berührung gestanden haben. Auch scheint es nicht ratsam, auf die zuletzt ausfließenden Teile der Neosalvarsanlösung in den Zylinder Kochsalz einzugießen, wie es bei Salvarsan üblich ist, weil die zugesetzte Flüssigkeit jene Teile des Medikamentes mit sich führen würde, welche an den Gefäßwänden zurückgeblieben sind und während der ganzen Dauer der Injektion mit der Luft in Kontakt waren. Kurz und gut, man muß bei der klinischen Praxis stets bedenken, daß eine Verzögerung von nur 10 Minuten hinreicht, um die Toxizität dieses Mittels beim *Kaninchen* von $>$ 0,3 auf $<$ 0,15 pro Kilo zu steigern.

Einen Schluß auf den Menschen zu ziehen ist bei der verschiedenen Empfindlichkeit der Menschen nicht statthaft. Aber die obenerwähnte Versuche wollen doch nur darauf hindeuten, daß eine Menge von 0,3 g pro Kilo Gewicht beim Menschen einer Dosis von 18 g entsprechen würde, und daß die im allgemeinen verwandte

---

[1]) Chemiker-Zeitung 1912, Nr. 46, S. 424.

Dosis etwa der 20. bis 30. und 40. Teil der letztgenannten ist. Bei einer Verzögerung der Injektion schon von 10 Minuten tritt aber zweifellos eine beträchtliche Toxizitätserhöhung ein, so daß eine viel geringere Dosis als die obengenannte kaum noch vertragen wird. Eine noch geringere Dosis hat ebenfalls noch schädliche Nebenwirkungen zur Folge. Darf man nicht diese schädlichen Nebenwirkungen direkt dem Neosalvarsan zuschreiben, sondern dem Oxydationsprodukt desselben.

Wie wir im Vorhergehenden gesehen haben, führt die Oxydationsschnelligkeit des neuen Präparates bei Tieren zu einer Steigerung der Toxizität nach subkutaner und intramuskulärer Injektion (intermediäre höhere toxische Oxydationsprodukte). Diese Toxizitätszunahme muß von verschiedenen Bedingungen abhängen, besonders von der mehr oder weniger großen Oxydationsmöglichkeit, welche das Präparat in den Geweben erfährt. Daher kann man wohl auch vermuten, daß diese Bedingungen beim Menschen anders als beim Tier sein können. Wenn es wahr ist, daß man sehr vorsichtig sein muß, wenn man die im Tierexperiment mit chemotherapeutischen Mitteln gemachten Erfahrungen auf die menschliche Pharmakologie übertragen will, so ist dies um so berechtigter in den Fällen wie der gegenwärtige. Hier hängen die experimentellen Befunde nicht nur von dem zu erprobenden Medikament ab, sondern vielleicht noch mehr von einzelnen eigentümlichen Umständen der Gewebe, mit denen dasselbe in Kontakt kommt. Nun wissen wir nicht, ob diese Oxydation auch beim menschlichen Organismus mit der gleichen Intensität wie in den Geweben der obenerwähnten Tiere auftritt. Die klinische Erfahrung wird möglicherweise darüber Aufschluß geben, ob die rasche Resorbierung des Neosalvarsans mit Aufhebung der Schmerzen, der Infiltrate und Nekrosen einen derartigen Vorteil darbieten wird, daß man seine Anwendung beim Menschen vielleicht auch bei intramuskulärer Injektion anraten soll. Jedenfalls aber ist bei der jetzt üblichen Praxis, das Dioxydiamidoarsenobenzol intravenös zu injizieren, von besonderem Interesse, zu wissen, daß es möglich ist, mit Neosalvarsan in der erforderlichen Vorsicht angewandt, eine größere Dosis Dioxydiamidoarsenobenzol als bisher verschiedenen Tieren auf intravenösem Wege zu geben.

In der Tabelle VI fasse ich die Daten zusammen, die sich aus den bisher angestellten Versuchen zur Feststellung der Toxizität des Neosalvarsans im Vergleich zum Salvarsan bei den verschiedenen Versuchstieren ergeben haben.

Tabelle VI.

Zusammenfassende Tabelle der Versuche über die Dosis Tolerata des Dioxydiamidoarsenobenzols.

Tier	Art der Injektion	Anwendungsform	
		Salvarsan	Neosalvarsan
Maus (pro 15 g)	intravenös	0,002145 g	0,00375 g
	subkutan	0,00375 „	0,001275 „
Huhn (pro Kilo)	intravenös	0,08 „	0,06 „
	intramuskulär	0,25 „	0,1 „
Taube (pro Kilo)	intravenös	0,08 „	0,12 „
	intramuskulär	0,09 „	0,04 „
Kaninchen (pro Kilo) . .	intravenös	0,1 „	0,2 „
	subkutan	0,15 „	0,1 „

Aus der zusammenfassenden Tabelle VI ergibt sich also, daß sowohl die Maus, wie die Tauben und das Kaninchen eine viel höhere Dosis von Neosalvarsan als von Salvarsan vertragen, wenn die Darreichung auf intravenösem Weg erfolgt. Bei subkutaner oder intramuskulärer Injektion ist dagegen die Dosis tolerata geringer. Dieses Verhältnis zwischen der Toxizität und der Darreichungsart tritt deutlich auch beim Huhn hervor.

Das Neosalvarsan ist also an und für sich weniger giftig als das Salvarsan. Wenn es jedoch infolge einer verspäteten Darreichung oder infolge einer subkutanen oder intramuskulären Injektion nur dann in den Blutkreislauf gelangt, nachdem es oxydiert ist, bringt es eine noch giftigere Wirkung hervor als das Salvarsan.

Heilwirkung des Neosalvarsans.

a) bei russischer Rekurrens.

Um die Heilwirkung des Neosalvarsans zu erproben, habe ich denselben Stamm benutzt, der schon Hata bei seinen Versuchen gedient hat: Es sollte untersucht werden, ob Neosalvarsan in geringerer Dosis als Salvarsan bei der Maus eine Sterilisatio magna hervorruft. Ich infizierte die Maus mit russischer Rekurrens: 10 Tropfen Blut von zwei seit 48 Stunden infizierten Tieren mit zahlreichen Spirillen im Blut werden mit 10 ccm kurze Zeit auf 37° gehaltener Kochsalzlösung (0,85 %) verdünnt. Ein ccm dieser Mutterlösung wird mit anderen 10 ccm physiologischer Lösung verdünnt, so daß eine Mischung entsteht, welche, mittels Paraboloidkonden-

sors untersucht, durchschnittlich eine Spirille in jedem Gesichtsfeld aufweist.

Die Injektion des Medikamentes findet am folgenden Morgen statt; in dieser Zeit sind die Spirillen schon im Blutkreislauf vorhanden. Die Prüfung des Blutes wird zwei Monate lang jeden Tag wiederholt, und nach dieser Zeit infiziert man jedes Tier nochmals mit einer stärkeren Dosis von Spirillen, um den Grad der Immunität festzustellen. Bei geheilten Mäusen ist die Immunität schwach, und bei einer Reinfektion verhalten sich die Tiere wie normale. War das Medikament unzulänglich, so findet die Infektion gar nicht oder erst nach vielen Tagen statt.

Bei einer ersten Reihe von Mäusen wurde das Neosalvarsan subkutan injiziert.

Auch diese Versuche stimmen nicht mit den Berichten von Kersten überein, was um so auffallender ist, als er sich eines hochvirulenten amerikanischen Rekurrensstammes und außerdem noch unseres Stammes bedient hatte, und gerade mit dem Frankfurter Stamm hatte er die besten Erfolge erzielt. Aus meinen Befunden geht hervor, daß nur die Dosis von 1 ccm einer Verdünnung von $^1/_{400}$ von Neosalvarsan zur Herbeiführung der dauernden Sterilisation bei einer Maus von 20 g Gewicht am ersten Tag nach der Infektion genügt. Dieser Dosis von Neosalvarsan entspricht 1 ccm einer Verdünnung von $^1/_{600}$ von Salvarsan. Die Kontrollversuche zeigten, daß diese Quantität hinreicht, mit Salvarsan die dauernde Sterilisation bei gleichstark infizierten Mäusen hervorzurufen. Kleinere, als die obenerwähnten Dosen von Neosalvarsan führten fast stets zu Rezidiven schon wenige Tage nach der Injektion.

Bei einer zweiten Reihe von Mäusen wurde das Neosalvarsan intravenös injiziert. Aus diesen, in Tabelle VII zusammengestellten Versuchen geht hervor, daß die zur Sterilisatio magna führende Dosis für eine 20 g schwere Maus gleich 1 ccm einer Lösung von $^1/_{300}$ ist. Die zum Vergleich von Neosalvarsan und Salvarsan angestellten Kontrollversuche haben gezeigt, daß Salvarsan intravenös injiziert eine vollständige Sterilisierung des Organismus bei gleich intensiven Infektionen bewirkt mit einer Dosis von 1 ccm einer Lösung von $^1/_{500}$. Nun entspricht 1 ccm einer Lösung von $^1/_{300}$ des Neosalvarsans 1 ccm einer Lösung $^1/_{450}$ des Salvarsans; die sterilisierende Dosis des Dioxydiamidoarsenobenzols unter der Anwendungsform von Neosalvarsan entspricht daher ungefähr derjenigen des Salvarsans. Aber für das Problem der Wirkung eines Medikamentes

Tabelle VII.[1])

Heilversuche mit Neosalvarsan (intra-

Maus Nr.	1	2	3	4	5	6	7
Gewicht g	16	14	15	15	11	12	15
			Infektion je 0,2 ccm intraperit. von einer				
am 1. Tage nach der Infekt. Spirillenzahl	+ (1 : 8)	+w (1 : 10)	+w (1 : 10)	+w (1 : 10)	+w (1 : 15)	+w (1 : 20)	+ (1 : 8)
erhält intravenös Neosalvarsan . = Dioxydiamidoarsenobenzol . .			1/900 1:1450	1/750 1:1125	1/750 1:1125	1/600 1 : 900	1/600 1 : 900
am 2. Tage nach der Infektion . . .	+ (2)	+ (5)	+sw (1 : 25)	+w (1 : 15)	+sw (1 : 90)	+w (1 : 10)	+ (1 : 3
„ 3. „ „ „ „ . . .	+ (4)	++	+ (1 : 3)	+ (1 : 2)	+ (1 : 4)	+ (1 : 3)	+ (1)
„ 4. „ „ „ „ . . .	—	+++	+ (6)	—	—	—	+ (8)
„ 5. „ „ „ „ . . .	—	+++	+	—	—	—	—
I. Rezidiv am Tage	7		—	7	7	7	7
Bemerkungen		am 6. Tag tot					
Reinfektion nach 2 Monaten							

muß man nicht von dem Grad der Toxizität absehen: In der Praxis gibt man jenem Präparat den Vorzug, von dem der Organismus eine größere Zahl heilender Dosen verträgt. Nun verträgt die Maus auf intravenösem Weg eine einzige heilende Dosis von Dioxydiamidoarsenobenzol, wenn dieses als Salvarsan gereicht wird, $2^1/_2$ heilende Dosen, wenn die Darreichung als Neosalvarsan stattfindet.

[1]) Erläuterung zur Tabelle VII.

In dieser Tabelle bedeutet das Zeichen — das Fehlen von Spirillen im Blutkreislaufe der Maus; die Zeichen +sw, +w, +, ++ und +++ geben die Menge der in jedem Gesichtsfelde vorhandenen Parasiten an, d. h.:

+sw = im ganzen Präparat sehr wenige Spirillen.
+w = 1 Spirillum in 10—50 Gesichtsfeldern.
+ = 1 Spirillum in 10 Gesichtsfeldern bis 10 Spirillen in einem Gesichtsfeld.
++ = 10—50 Spirillen in einem Gesichtsfeld.
+++ = über 50 Spirillen in einem Gesichtsfeld.

Die genaue Zahl der Parasiten wird durch die eingeklammerten Nummern angegeben. Bei den Brüchen in den Klammern bezeichnet der Divisor die Anzahl der Gesichtsfelder, der Divident die in diesen gefundene Parasitenzahl.

In der Tabelle ist der Konzentrationsgrad der jeder Maus injizierten Lösung in konstantem Verhältnis von 1 ccm zu je 20 g Gewicht des Tieres angegeben.

Tabelle VII.

venös) bei russischer Rekurrens.

8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
10	13	12	10	10	16	12	10	14	15	10
Blutverdünnung (Spirillenzahl 1—1/2)										
+w	+	+w	+w	+w	+w	+w	+w	+	+w	+
(1 : 15)	(1 : 8)	(1 : 15)	(1 : 15)	(1 : 15)	(1 : 15)	(1 : 11)	(1 : 20)	(1 : 9)	(1 : 15)	(1 : 5)
1/500	1/500	1/500	1/400	1/400	1/400	1/400	1/300	1/300	1/300	1/200
1 : 750	1 : 750	1 : 750	1 : 600	1 : 600	1 : 600	1 : 600	1 : 450	1 : 450	1 : 450	1 : 300
+w	+	+w	+sw	+sw						
1 : 15)	(1 : 4)	(1 : 20)	(1 : 80)	(1 : 70)	—	—	—	—	—	—
	+									
—	(1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	(1)									
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	7	6	6	6	8	6	—	—	—	—
								Dauernd frei		
							positiv	positiv	positiv	positiv

b) bei Hühnerspirillosis.

Auch für die Versuche über die Wirkung des Neosalvarsans bei Hühnerspirillosis habe ich denselben Stamm benutzt, der **Hata** gedient hat und hielt mich an dieselbe Technik: Eine kleine Menge Blutes, die einem seit drei Tagen infizierten Huhn entnommen wurde, wurde mit Kochsalzlösung verdünnt. Man erhielt so eine Spirillenaufschwemmung, welche ungefähr 20 Parasiten in jedem Gesichtsfeld zeigte. 0,5 ccm (pro Kilo) dieser Aufschwemmung, intramuskulär eingespritzt, ruft eine Infektion hervor, die sich durch Spirillen im kreisenden Blut am zweiten Tag kundgibt. In dieser Zeit injiziert man das Medikament tief in die Kielmuskulatur. Die Beobachtung wird dann regelmäßig 14 Tage lang durch Blutprüfungen am Paraboloid und mittels Tuschpräparate nach **Burri** ausgeführt.

Aus der Tabelle VIII ergibt sich, daß die sofort sterilisierende Dosis Neosalvarsan zwischen 0,004 und 0,006 g pro Kilo Gewicht des Tieres liegt. Die als Kontrolle angestellten Versuche mit Salvarsan bestätigen die Angaben **Hatas**, wonach die sofort sterili-

Tabelle VIII.[1])

Heilversuche mit Neosalvarsan

Huhn Nr.	1	2	3	4	5
Gewicht g	1220	1310	1420	980	1420
1. Tag nach der Infektion	—	—	—	—	—
2. do. { Spirillenzahl	+ sw	+ w	+ sw	+ sw	+ sw
2. do. { Dosis pro kg (intramuskulär)	—	—	0,008	0,0075	0,007
3. Tag nach der Infektion	++	+++	—	—	—
4. " " " "	+++	+++	—	—	—
5. " " " "	+++	+++	—	—	—
6. " " " "	+++	—	—	—	—
7. " " " "	—	—	—	—	—
8. " " " "		—	—	—	—
9. " " " "	—	—	—	—	—
10. " " " "	—	—	—	—	—

sierende Dosis 0,0035 g ist: wenn man nun beachtet, daß 0,006 g Neosalvarsan 0,004 g Dioxydiamidoarsenobenzol enthalten, so schließt man daraus, daß das Neosalvarsan eine nicht geringere Wirkung hat. Wenn man aber die Toxizität des Präparates am Huhn berücksichtigt, scheint es nicht ratsam zu sein, bei der Behandlung der Hühnerspirillosis das Neo- dem Salvarsan zu substituieren.

c) bei Kaninchensyphilis.

Um die Wirkungen der verschiedenen Medikamente bei der Syphilis festzustellen, habe ich Kaninchen mit Schanker am Skrotum benutzt, die nach dem vor langer Zeit zuerst von Ossola und Hoffmann beschriebenen Verfahren hervorgerufen wurden. Kleine Stückchen von virulentem Material werden von einem infizierten Kaninchen genommen und unter die Haut des Skrotums gesetzt. Auf diese Weise erhält man nach einer verschiedenen Periode der Inkubation jene charakteristischen Erscheinungen, wie sie als syphilitischer Kaninchenschanker bezeichnet werden. Bezüglich der Dauer

---

[1]) Erläuterung zur Tabelle VIII.

In dieser Tabelle bedeutet das Zeichen — das Fehlen von Spirillen im Blutkreislaufe des Huhns;

+w = 1 Spirillum in mehr als 50 Gesichtsfeldern.
\+ = 1 Spirillum und mehr in 50 Gesichtsfeldern.
++ = 1 Spirillum in jedem Gesichtsfeld.
+++ = mehrere Spirillen.

Tabelle VIII.

bei Hühnerspirillosis.

6	7	8	9	10	11	12	13	14
1380	1330	1160	1510	1730	1250	1450	1520	1120
—	—	—	—	—	—	—	—	—
+ sw	+ sw	+ w	+ w	+ w	+ w	+ sw	+ w	+ w
0,006	0,005	0,005	0,005	0,005	0,004	0,004	0,004	0,003
—	—	+	+	—	+ (1 : 7)	—	—	+
—	—	—	—	—	—	—	—	+
—	—	—		—		—	—	—
—	—		—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—

der Inkubationsperiode wie hinsichtlich des Verlaufes jedes einzelnen Schankers ist es nicht möglich, bestimmte Grenzen festzusetzen. Aber um die Wirkung der Medikamente zu erproben, ist es notwendig, zu bedenken, daß diese Bildungen sich in verschiedener Weise verhalten, je nachdem sie sich in der Wachsperiode befinden oder ihre größte Entwicklung erreicht haben oder sich im Zustande der Regressionsperiode befinden. Nicht nur in diesem letzten Fall, sondern auch, wenn die typischen Bildungen in ihrer Entwicklung stationär sind, scheinen diese viel empfindlicher zu sein gegen die Wirkung eines Medikamentes, wenn man auch kein unterschiedliches Datum erhalten kann, weder aus dem morphologischen Charakter des Schankers, der sich noch unter seiner typischen Form mit derber knorpelartiger Randzone zeigt, noch aus der Zahl oder der Beweglichkeit der Spirochäten. Deshalb ist es notwendig, die Entwicklung dieser Erscheinungen regelmäßig und methodisch zu verfolgen und sich für die chemotherapeutischen Versuche nur an jene zu halten, die sich noch in der Entwicklungsperiode zeigen; im Speyer-Haus werden daher die Kaninchen regelmäßig alle 8 Tage beobachtet, und jedesmal werden die genauen Durchmesser der sich bildenden Geschwüre genommen. Auf diese Art besitzen wir ein Kriterium, um ein Urteil zu erhalten über die Verwendbarkeit des Schankers für chemotherapeutische Versuche. Der syphilitische Stamm, welcher mir für die Versuche, die ich näher erklären werde, gedient hat, ist noch der alte, den Hata für seine

Versuche gebraucht hat. Es wäre aber ein Irrtum, die Angaben meiner Befunde mit den von Hata erhaltenen Resultaten beim Studium des Salvarsans ohne weiteres zu vergleichen. Es ist bekannt, daß die Virulenz eines syphilitischen Stammes bei Kaninchen zunimmt durch fortgesetzte Übertragungen. So ist der zurzeit im Speyer-Haus vorhandene Stamm viel virulenter als er vorher war.

Viele Betrachtungen sprechen für eine Zunahme der Virulenz:

a) Der hohe Prozentsatz der positiven Übertragungen (in vielen Fällen 100 %).

b) Das Volumen, welches die einzelnen Schanker erreichen, wenn sie sich selbst überlassen werden.

c) Die Häufigkeit der an ferner liegenden Organen auftretenden Erscheinungen infolge weniger Injektionen und manchmal nur einer einzigen intravenösen Injektion einer Spirochätenaufschwemmung und

d) die rasche und auffallende Entwicklung dieser Erscheinungen.

Nun kann man denken, daß mit einer Vermehrung der Virulenz auch eine erhöhte Resistenz des Stammes gegen ein Medikament erfolgen müßte. In diesem Fall wird die sofort sterilisierende Dosis[1]) für die mit dem alten Stamm infizierten Kaninchen niedriger sein als jene für die mit dem virulenten Stamm infizierten Tieren.

Bevor ich mich jedoch mit den Versuchen über die Wirkung des Neosalvarsans befaßte, war es notwendig, einige Versuche mit dem alten Präparat zu wiederholen, um von da Vergleiche abzuleiten.

Bei diesen Versuchen habe ich mit besonderer Aufmerksamkeit das Verhalten der Spirochäten nach der Injektion des Mittels beobachtet, weil, wie schon Hata bemerkt hat, dieses beim Studium der Wirkung eines Heilmittels ein weit sichereres Merkmal ist, als die Zeit, welche das vollständige Abheilen beansprucht.

Die Kaninchen Nr. 1, 2, 3 und 4 wurden also mit Salvarsan in alkalischer Lösung durch intravenöse Injektion behandelt. Das Kaninchen Nr. 1 hat intravenös 0,06 g pro Kilo erhalten, das Kaninchen Nr. 2 bekam 0,045 g, Kaninchen Nr. 3 0,025 g und Kaninchen Nr. 4 0,015 g pro Kilo Gewicht des Tieres.

Ich lasse die Protokolle der einzelnen Versuche folgen und stelle sie in der Tabelle IX zusammen.

---

[1]) Als sofort sterilisierende bezeichne ich die zum Verschwinden der Spirochäten binnen 24 Stunden nach der Injektion nötige Dosis.

In den Protokollen und Tabellen gebe ich in Zentimetern die Durchmesser der einzelnen Erscheinungen an: In den Tabellen bezeichne ich als Schankervolumen das Produkt der drei größten Durchmesser.

Kaninchen Nr. 1.

26. 7. 11. Infiziert auf beiden Hoden.
10. 8. 11. Beiderseits erbsengroße Indurationen.
20. 8. 11. Beiderseits erbsengroße Indurationen.
4. 9. 11. Rechts glatt, links Indurationen 1,4 × 1,5 × 0,9 mit intakter Haut.
15. 9. 11. Links Schanker 1,5 × 1,6 × 1,1.
25. 9. 11. Links Schanker 1,9 × 2,1 × 1,2 mit erbsengroßer Inguinaldrüsenanschwellung.
29. 9. 11. Links Schanker 2 × 2,5 × 1,3.
5. 10. 11. Links Schanker 2,3 × 2,7 × 1,3.
9. 10. 11. Links Schanker 2,3 × 2,8 × 1,3 mit großer dicker Kruste. Sehr viele gutbewegliche Spirochäten. Gewicht des Tieres 1650 g; erhält intravenös 29,7 ccm einer Verdünnung $^1/_{300}$ aus Salvarsan = **0,06** pro Kilogramm.
30 Minuten nach der Injektion Spirochäten wie oben.
1 Stunde nach der Injektion einige Spirochäten langsam beweglich, die übrigen gut beweglich.
$1^1/_2$ Stunden nach der Injektion wie oben.
2 Stunden nach der Injektion einzelne Spirochäten unbeweglich, die übrigen langsam beweglich.
$2^1/_2$ Stunden nach der Injektion viele Spirochäten unbeweglich; alle anderen langsam beweglich.
$3^1/_2$ Stunden nach der Injektion wenige Spirochäten meistens unbeweglich.
$4^1/_2$ Stunden nach der Injektion wie oben.
5 Stunden nach der Injektion nur einige langsam bewegliche.
$5^1/_2$ Stunden nach der Injektion wie oben.
6 Stunden nach der Injektion noch einige langsam bewegliche Spirochäten, ziemlich viele unbeweglich und degeneriert.
$7^1/_2$ Stunden nach der Injektion nur einzelne langsam beweglich, alle anderen unbeweglich und degeneriert.
10. 10. 11. 21 Stunden nach der Injektion unbewegliche und degenerierte Spirochäten.
24 Stunden nach der Injektion sehr wenige unbewegliche und degenerierte Spirochäten.
27 Stunden nach der Injektion keine Spirochäten mehr zu finden.
11. 10. 11. Keine Spirochäten, Schanker kleiner 2,1 × 2,4 × 1,1 cm.
12. 10. 11. Keine Spirochäten, Schanker noch kleiner. Durchmesser 2 × 2,3 × 1 cm.
13. 10. 11. Keine Spirochäten, Durchmesser des Schankers 1,9 × 2,1 × 0,9.
14. 10. 11. Kruste abgefallen, Durchmesser der Induration 1,5 × 8 × 0,8.

17\. 10. 11. Hauterosion 0,9 × 1,1 cm mit schwacher Randinfiltration.
19\. 10. 11. Hauterosion 0,8 × 0,9.
24\. 10. 11. Kleine Hauterosion mit schwacher Infiltration.
30\. 10. 11. Glatt.

Kaninchen Nr. 2.

2\. 9. 11. Infektion subkutan auf beiden Hoden.
25\. 9. 11. Beiderseits kleine Schanker.
29\. 9. 11. Beiderseits Schanker, Durchmesser 1,2 × 1,4 × 1 cm.
12\. 10. 11. Rechts Schanker 2,1 × 2,3 × 1,4 cm, links Schanker 2 × 2,2 × 1,5 mit sehr vielen gut beweglichen Spirochäten. Gewicht des Kaninchens 1970 g, erhält intravenös 17,73 ccm aus Salvarsan in einer Verdünnung 1/200 = **0,045 g** pro Kilo.
1/2 Stunde nach der Injektion sehr viele gut bewegliche Spirochäten.
1 Stunde nach der Injektion noch sehr viele gut bewegliche Spirochäten, einige langsam beweglich.
2 Stunden nach der Injektion meistens gut bewegliche Spirochäten, wenige langsam beweglich, einige unbeweglich.
3 Stunden nach der Injektion Spirochätenzahl weniger, meistens unbeweglich, andere langsam beweglich, einzelne noch gut beweglich.
4 Stunden nach der Injektion Spirochätenzahl noch geringer; einige langsam beweglich, die anderen unbeweglich.
5 Stunden nach der Injektion wie oben.
6 Stunden nach der Injektion noch einige Spirochäten langsam beweglich, fast alle aber unbeweglich und degeneriert.
7 Stunden nach der Injektion einzelne sehr langsam bewegliche Spirochäten, sehr wenig unbeweglich und degeneriert.
8 Stunden nach der Injektion wie oben.
13\. 10. 11. 22 Stunden nach der Injektion sehr wenige, unbewegliche, degenerierte Spirochäten, Schanker rechts 2 × 2,1 × 1,3, links 1,8 × 2 × 1,4.
24 Stunden nach der Injektion sehr wenige, degenerierte Spirochäten.
24 Stunden nach der Injektion sehr wenige, degenerierte Spirillen (4 Präparate sind von Spirochäten frei, in 1 Präparat sind 3 degenerierte Formen).
14\. 10. 11. Einzelne degenerierte Spirochäten, Schanker kleiner, rechts 1,7 × 1,8 × 1,3 cm, links 1,6 × 1,6 × 1,2 cm.
15\. 10. 11. Noch unbewegliche und degenerierte Spirochäten, Schanker rechts 1,7 × 1,7 × 1,1 cm, links 1,5 × 1,6 × 1,1 cm.
16\. 10. 11. Frei von Spirochäten.
17\. 10. 11. Keine Spirochäten mehr zu finden.
19\. 10. 11. Keine Spirochäten, Kruste fällt ab. Rechts Hauterosion 1,5 × 1,6 mit mäßiger Randinfiltration, links Hauterosion 1,4 × 1,4.
24\. 10. 11. Randinfiltration sehr schwach beiderseits.
30\. 10. 11. Beiderseits kleine Hauterosion 0,5 × 0,5 mit schwacher Infiltration.
8\. 11. 11. Beiderseits Narbe.

Kaninchen Nr. 3.

23. 8. 11. Infiziert auf beiden Hoden.

25. 9. 11. Beiderseits erbsengroße Indurationen.

23. 9. 11. Links erbsengroße Induration mit intakter Haut, rechts erbsengroße Induration mit ganz kleiner Hauterosion.

10. 10. 11. Beiderseits Indurationen 1 × 1,6 × 0,5 mit kleinen Hauterosionen.

17. 10. 11. Rechts Schanker 1,4 × 1,9 × 1,2 cm, links Schanker 1,9 × 1,2 × 0,7.

24. 10. 11. Rechts Schanker 1,6 × 1,9 × 1,5 cm, links Schanker 2,1 × 1,6 × 1.

31. 10. 11. Rechts Schanker 1,9 × 2 × 1,6 cm, links Schanker 2,3 × 1,7 × 1,1; beiderseits Schanker mit dicker Kruste bedeckt, links noch eine bohnengroße Induration mit kleiner Hauterosion. Viele Spirochäten an Probepunktion. Gewicht des Kaninchens 2100 g. Das Tier erhält intravenös 10,5 ccm aus Salvarsan einer Verdünnung $^1/_{200}$ = **0,025 g** pro Kilogramm Gewicht.

1 Stunde nach der Injektion Spirochäten und Schanker unverändert.

2 Stunden nach der Injektion Spirochäten und Schanker noch unverändert.

3 Stunden nach der Injektion Spirochätenzahl etwas geringer als vorher.

4 Stunden nach der Injektion Spirochätenzahl etwas kleiner, einzelne degenerierte Formen meistens aber gut bewegliche Spirochäten.

5 Stunden nach der Injektion ziemlich viele langsam bewegliche Spirochäten.

6 Stunden nach der Injektion wie oben.

8 Stunden nach der Injektion ziemlich viele unbewegliche Spirochäten, einige (6—10 in jedem Präparat) langsam bewegliche.

1. 11. 11. 24 Stunden nach der Injektion ziemlich viele unbewegliche Spirochäten und degenerierte Formen beiderseits, Schanker hyperämisch und weicher.

30 Stunden nach der Injektion noch einige unbewegliche und degenerierte Spirochäten, eine sehr langsam beweglich.

2. 11. 11. Wenige, unbewegliche, jedoch gut konservierte Spirochäten. Schanker kleiner, rechts Durchmesser 1,5 × 1,7 × 1,5 cm, links Durchmesser 2 × 1,5 × 1 cm.

3. 11. 11. Beiderseits Kruste abgefallen, Infiltration sehr schwach. Rechts Induration mit Durchmesser von 1,3 × 1,4 × 1 cm, links Induration mit Durchmesser 1,5 × 1,2 × 0,7 cm. Rechts noch unbewegliche Spirochäten und degenerierte Formen.

4. 11. 11. Noch einzelne (jedoch sehr wenige und degenerierte) Spirochäten.

5. 11. 11. Keine Spirochäten mehr zu finden. Rechts Hauterosion 1,1 × 1,2, links Hauterosion 1,2 × 1 mit sehr schwacher Randinfiltration.

10. 11. 11. Rechts Induration 0,6 × 0,6 × 0,5, links Induration 0,5 × 0,7 × 0,5 mit kleiner Hauterosion.

13. 11. 11. Beiderseits erbsengroße Induration mit kleiner Hauterosion und kleiner Kruste.

17. 11. 11. Narbe beiderseits.

26. 11. 11. Glatt.

Tabelle IX.

Wirkung des Salvarsans auf den Syphilis-

Kaninch. Nr.	Durchmesser der Schanker	Volumen der Schanker	Dosis pro Kilo	nach 24 Stunden		nach 48 Stunden	
				Spirochäten-befund	Schanker-volumen	Spirochäten-befund	Schanker-volumen
1	2,3 × 2,8 × 1,3	8,37	0,06	s. w. unbew.	—		5,54
2	R. 2,1 × 2,3 × 1,4	6,8	0,045	s. w. unbew.	5,46	s. w. unbewegl.	3,98
	L. 2 × 2,2 × 1,5	6,6		s. w. unbew.	5,04	s. w. unbewegl.	3,07
3	R. 2 × 1,9 × 1,6	6,08	0,025	z. viele unbew.	—	wenig unbew.	3,82
	L. 2,3 × 1,7 × 1,1	4,3		z. viele unbew.	—	wenig unbew.	3
4	R. 3,7 × 2,8 × 1,8	18,6	0,015	gutbewegl.		unbewegl.	—
	L. 3,4 × 2,9 × 1,7	16,2		gutbewegl.	—	einige gutbew.	—

Kaninchen Nr. 4.

3. 2. 12. Infektion subkutan auf beiden Hoden.
24. 2. 12. Rechts bohnengroße Induration mit kleiner Hauterosion, links erbsengroße Induration.
5. 3. 12. Rechts kleiner Schanker, links erbsengroße Induration mit Haut intakt.
11. 3. 12. Rechts Schanker 1,3 × 1,2 × 1, links Schanker 1 × 1 × 0,9.
19. 3. 12. Rechts Schanker 1,8 × 1,9 × 1,2, links Schanker 1,5 × 1,8 × 1.
25. 3. 12. Rechts Schanker 2 × 2,5 × 1,6, links Schanker 2,4 × 2 × 1,3.
1. 4. 12. Rechts Schanker 2,5 × 3 × 1,6, links Schanker 2,7 × 2,5 × 1,6.
9. 4. 12. Rechts Schanker 2,9 × 3,5 × 1,8, links Schanker 2,7 × 3,2 × 1,6.
12. 4. 12. Rechts Schanker 2,8 × 3,7 × 1,8, links Schanker 2,9 × 3,4 × 1,7. Schanker etwas weich, bei der Probepunktion sehr zahlreiche, gutbewegliche Spirochäten. Gewicht des Tieres 1460 g, erhält intravenös 8,76 ccm einer Verdünnung $^1/_{400}$ aus Salvarsan = **0,015 g** pro Kilo.
13. 4. 12. Beiderseits gutbewegliche Spirochäten.
14. 4. 12. Rechts unbewegliche Spirochäten, links noch einige gut bewegliche Spirochäten.
15. 4. 12. Beiderseits unbewegliche Spirochäten, links noch einige langsam bewegliche. Schanker rechts 2,7 × 3,2 × 1,7 cm, links 2,3 × 2,9 × 1,5.
16. 4. 12. Schanker viel weicher beiderseits; noch unbewegliche Spirochäten und degenerierte Formen.
17. 4. 12. Noch einige unbewegliche, degenerierte Spirochäten. Durchmesser der Indurationen; rechts 2,3 × 3 × 1,4, links 2,2 × 2,7 × 0,8.
18. 4. 12. Keine Spirochäten mehr zu finden.
20. 4. 12. Rechts Hauterosion 2 × 2,5 cm, links Hauterosion 2,1 × 2,5, beiderseits schwache Randinfiltration. Keine Spirochäten.
30. 4. 12. Beiderseits Hauterosion 0,5 × 0,5 mit sehr schwacher Infiltration.
10. 5. 12. Links glatt, rechts Hauterosion 0,5 × 0,5.
19. 5. 12. Beiderseits glatt.

Tabelle IX.

schanker am Skrotum des Kaninchens.

am 3. Tag		am 4. Tag		am 5. Tag		
Spirochätenbefund	Schankervolumen	Spirochätenbefund	Schankervolumen	Spirochätenbefund	Schankervolumen	
—	4,6	—	3,6	—	2,2	glatt am 10. Tag
s. w. degen.	3,17	—	—	—	—	glatt am 27. Tag
s. w. degen.	2,64	...		—	—	
unbewegl.	1,82	einzelne unbew.	-	—	—	glatt am 27. Tag
unbewegl.	1,26	einzelne unbew.	—	—	—	
unbewegl.	14,7	unbewegl.	—	unbewegl.	9,9	am 6. Tag von Spiroch. frei
einzelne l. bew.	10	unbewegl.	—	unbewegl.	4,75	glatt am 38. Tag

Aus der Beobachtung der Kaninchen, von denen die Berichte in der Tabelle IX zusammengefaßt sind, ergibt sich, daß die intravenöse Injektion einer alkalischen Lösung von Salvarsan in der Dosis von 0,015 g pro Kilo Gewicht zu einem vollständigen Verschwinden der Spirochäten aus den Erscheinungen am Skrotum erst am 6. Tage führt. Bei einer Dosis von 0,025 g pro Kilo Gewicht bringt sie die Sterilisierung des Schankers erst am 5. Tag hervor; bei einer Dosis von 0,045 g pro Kilo erfolgt die Sterilisierung am 4. Tag: 24 Stunden nach der Injektion von 0,06 g pro Kilo beobachtet man noch im Schanker einige unbewegliche Spirochäten.

Die sofort sterilisierende Dosis von Salvarsan in alkalischer Lösung ist demnach für den angewandten syphilitischen Stamm etwas größer als 0,06 g pro Kilo Gewicht, die kurative ist 0,015.

In analoger Weise bin ich zum Studium der Heilwirkung des Neosalvarsans vorgeschritten.

Kaninchen Nr. 5.

3. 2. 12. Infektion subkutan auf beiden Hoden.

24. 2. 12. Beiderseits kleine Schanker.

3. 3. 12. Rechts Schanker 2 × 2,4 × 1,3, links Schanker 1,8 × 2,3 × 1,2.

11. 3. 12. Rechts Schanker 2,4 × 2,9 × 1,6, links Schanker 2,3 × 2,7 × 1,7 mit tiefer, dicker, trockener Kruste; Inguinaldrüsenanschwellung beiderseits. Sehr zahlreiche Spirochäten. Gewicht des Kaninchens 2120 g, erhält intravenös 8,40 ccm einer Verdünnung $^1/_{100}$ von Neosalvarsan = **0,04 g** pro Kilo, nachmittags 4 Uhr Injektion.

12. 3. 12. 12 Uhr keine Spirochäten mehr zu finden.

13. 3. 12. Keine Spirochäten. Schanker rechts 2,1 × 2,4 × 1,3, links 1,8 × 2,2 × 1,2.
14. 3. 12. Keine Spirochäten. Schanker rechts 2,1 × 2,3 × 1,3, links 1,8 × 2 × 1,1.
16. 3. 12. Schanker noch kleiner, rechts 2 × 2,1 × 1,1, links 1,8 × 2 × 0,8.
19. 3. 12. Beiderseits trockene, fast ganz abgefallene Krusten.
21. 3. 12. Rechts Hauterosion 1 × 1,2 mit mäßiger Randinfiltration, links noch dicke trockene Kruste vorhanden.
25. 3. 12. Beiderseits Hauterosion 0,7 × 0,7 mit sehr schwacher Infiltration.
28. 3. 12. Rechts stecknadelkopfgroße Hauterosion mit schwacher Infiltration.
1. 4. 12. Beiderseits stecknadelkopfgroße Hauterosion.
4. 4. 12. Beiderseits oberflächliche Narbe.
9. 4. 12. Glatt.

Kaninchen Nr. 6.

20. 11. 11. Infektion subkutan auf beiden Hoden.
18. 12. 11. Beiderseits erbsengroße Indurationen.
28. 12. 11. Links bohnengroße Induration, rechts charakteristischer Schanker.
16. 1. 12. Rechts Schanker 2 × 2,4 × 1,4, links Schanker 2,7 × 2,5 × 1,3.
27. 1. 12. Unverändert.
6. 2. 12. Rechts Schanker 2 × 3,2 × 0,7, links Schanker 3,3 × 2,6 × 1. Sehr zahlreiche Spirochäten. Gewicht des Kaninchens 1790 g, erhält intravenös 5,907 ccm einer Verdünnung $^1/_{100}$ Neosalvarsan = **0,033 g** pro Kilo.
7. 2. 12. Einzelne unbewegliche und degenerierte Spirillen.
8. 2. 12. Frei von Spirochäten; Schanker weicher.
9. 2. 12. Keine Spirochäten.
10. 2. 12. Keine Spirochäten. Schanker rechts 2 × 2,5 × 0,7, links 3 × 2 × 0,7.
13. 2. 12. Beiderseits Induration mit trockener, dicker Kruste, rechts 2 × 2,3 × 0,7, links 3 × 1,8 × 0,5.
23. 2. 12. Beiderseits kleine Hauterosion mit ganz oberflächlicher Kruste.
29. 2. 12. Beiderseits stecknadelkopfgroße Hauterosion mit ganz kleiner Kruste.
5. 3. 12. Glatt.
11. 3. 12. Glatt.
19. 3. 12. Glatt.

Kaninchen Nr. 7.

22. 12. 11. Infektion subkutan auf beiden Hoden.
22. 1. 12. Links kleiner Schanker, rechts glatt.
24. 2. 12. Links Schanker 2 × 2 × 1,5 mit kleiner Kruste.
29. 2. 12. Links Schanker 2,5 × 2,5 × 1,3 mit tiefer Kruste. Sehr zahlreiche Spirochäten. Gewicht des Kaninchens 2050 g, erhält intravenös 6,15 ccm einer Verdünnung $^1/_{100}$ aus Neosalvarsan = **0,03 g** pro Kilo.
1. 3. 12. Ziemlich viele Spirochäten, alle jedoch unbeweglich.
2. 3. 12. Sehr wenige, unbewegliche Spirillen.
3. 3. 12. Keine Spirochäten mehr zu finden.
5. 3. 12. Keine Spirochäten. Schanker links 2,1 × 2,1 × 1,1.

11. 3. 12. Links Hauterosion 1,2 × 1,3 cm mit schwacher Infiltration und trockener Kruste; die Kruste neigt zum Abfall.
19. 3. 12. Nur noch linsengroße Hauterosion mit schwacher Infiltration.
25. 3. 12. Glatt.
1. 4. 12. Glatt.

Kaninchen Nr. 8.

3. 2. 12. Infiziert subkutan auf beiden Hoden.
24. 2. 12. Beiderseits kleiner Schanker.
3. 3. 12. Rechts Schanker 1,5 × 1,7 × 1, links Schanker 1,5 × 1,8 × 1,1.
11. 3. 12. Rechts Schanker 2,24 × 1,3, links Schanker 2 × 2,5 × 1,2 mit dicker, trockener Kruste. An Probepunktion sehr zahlreiche Spirochäten. Gewicht des Kaninchens 1530 g, erhält intravenös 9,18 ccm einer Verdünnung $^1/_{200}$ aus Neosalvarsan = **0,03 g** pro Kilo.
12. 3. 12. Sehr wenige, unbewegliche Spirochäten.
13. 3. 12. Noch wenige, unbewegliche Spirochäten. Schanker rechts 1,7 × 2 × 0,9 cm, links 1,6 × 1,9 × 1.
14. 3. 12. Keine Spirochäten mehr. Durchmesser der Schanker rechts 1,6 × 2 × 08 cm, links 1,6 × 1,9 × 1.
15. 3. 12. Keine Spirochäten.
16. 3. 12. Durchmesser der Schanker rechts 1,6 × 1,9 × 0,7, links 1,5 × 1,8 × 0,9.
19. 3. 12. Beiderseits trockene Kruste mit mäßiger Infiltration.
21. 3. 12. Trockene dicke Kruste beiderseits.
25. 3. 12. Rechts Kruste abgefallen, links trockene Kruste noch vorhanden.
28. 3. 12. Beiderseits kleine Hauterosion 0,5 × 0,5 mit schwacher Infiltration.
4. 4. 12. Glatt.
9. 4. 12. Glatt.

Kaninchen Nr. 9.

22. 8. 11. Infiziert subkutan auf beiden Hoden.
15. 9. 11. Erbsengroße Indurationen beiderseits.
29. 9. 11. Beiderseits bohnengroße Induration mit kleiner Hauterosion und oberflächlicher Kruste.
17. 10. 11. Unverändert.
15. 11. 11. Noch bohnengroße Indurationen beiderseits.
18. 12. 11. Rechts Schanker 1,2 × 1,5 × 1,3, links Schanker 1,5 × 1,5 × 1,4.
28. 12. 11. Unverändert.
16. 1. 12. Rechts Schanker 1,5 × 1,5 × 1,7, links Schanker 1,5 × 1,5 × 1,3.
27. 1. 12. Beiderseits unverändert.
1. 2. 12. Rechts Schanker 1,4 × 1,8 × 1,7, links Schanker 1,5 × 1,5 × 1,4; beiderseits kleine Hauterosion. An Probepunktion sehr zahlreiche gutbewegliche Spirochäten. Gewicht des Kaninchens 2540 g, erhält intravenös 7,62 ccm einer Verdünnung $^1/_{100}$ aus Neosalvarsan = **0,03 g** pro Kilo.
2. 2. 12. Beiderseits keine Spirochäten mehr zu finden.
3. 2. 12. Keine Spirochäten.
4. 2. 12. Keine Spirochäten. Die Indurationen haben abgenommen.

5. 2. 12. Rechts Induration 0,9 × 1 × 0,9, links Induration 0,7 × 0,9 × 0,7.
23. 2. 12. Beiderseits kleine Hauterosion mit sehr schwacher Randinfiltration.
24. 2. 12. Glatt beiderseits.
3. 3. 12. Glatt.

Kaninchen Nr. 10.

14. 3. 11. Infiziert subkutan auf beiden Hoden.
6. 4. 11. Kleine Schanker beiderseits.
14. 4. 11. Rechts Schanker 1,2 × 1,2 × 0,7, links Schanker 1,6 × 2 × 1.
24. 4. 11. Rechts Schanker 1,5 × 1,6 × 1,2. links Schanker 1,6 × 2,5 × 1,2.
5. 5. 11. Rechts Schanker 1,6 × 1,7 × 1,2, links Schanker 1,8 × 2,6 × 1,9. Gewicht des Tieres 2010 g. Sehr viele gutbewegliche Spirochäten. Das Kaninchen erhält intravenös 11,04 ccm einer Verdünnung $^1/_{200}$ = **0,0225 g** pro kg aus Neosalvarsan.
6. 5. 11. Schanker etwas rot beiderseits; beiderseits sehr wenige kurze zerrissene Spirochäten, alle unbewegliche.
7. 5. 11. Schanker etwas weicher, keine Spirochäten mehr.
8. 5. 11. Schanker kleiner, links 1,4 × 2 × 1,3, rechts 1,4 × 1,4 × 1. Keine Spirochäten.
9. 5. 11. Frei von Spirochäten.
10. 5. 11. Rechts 1 × 2 × 1,3 × 0,8, links 1,4 × 1,5 × 1.1.
14. 5. 11. Rechts 1 × 1 × 0,6, links 1.2 × 1,5 × 1. Keine Spirochäten.
23. 5. 11. Kleine Hauterosion beiderseits.
3. 6. 11. Glatt beiderseits.

Kaninchen Nr. 11.

24. 12. 11. Infiziert subkutan auf den linken Hoden.
24. 1. 12. Kleine Induration auf dem linken Hoden.
24. 2. 12. Auf dem linken Hoden Induration 2 × 2 cm mit kleiner Hauterosion.
3. 3. 12. Induration auf dem linken Hoden zugenommen. Durchmesser 2,6 × 2,6 × 1,5 cm.
11. 3. 12. Links Schanker 3 × 3 × 1,5 cm mit kleiner Hauterosion und Kruste. An Probepunktion sehr zahlreiche Spirochäten. Gewicht des Kaninchens 2010 g, erhält intravenös 9,24 ccm einer Verdünnung $^1/_{200}$ aus Neosalvarsan = **0,023 g** pro Kilo Tier.
12. 3. 12. Sehr wenige, unbewegliche Spirillen. Schanker stark hyperämisch.
13. 3. 12. Noch einzelne, unbewegliche Spirillen und degenerierte Formen. Schanker kleiner. Durchmesser 2,5 × 2,3 × 1,4 cm.
14. 3. 12. Noch einzelne, unbewegliche Spirillen. Schankergröße 2,5 × 2,2 × 1,1 cm.
15. 3. 12. Keine Spirillen mehr zu finden.
16. 3. 12. Keine Spirillen mehr zu finden. Durchmesser der Induration 2,3 × 1,9 × 1 cm.
19. 3. 12. Induration kleiner.
21. 3. 12. Durchmesser der Induration 1,6 × 1,5 × 0,8, trockene Kruste.
28. 3. 12. Kruste abgefallen. Hauterosion 0,9 × 1 mit schwacher Infiltration.
1. 4. 12. Nur noch kleine Hauterosion 0,4 × 0,4 mit sehr schwacher Infiltration.

9. 4. 12. Stecknadelkopfgroße Hauterosion.
15. 4. 12. Oberflächliche Narbe.
20. 4. 12. Glatt.

Kaninchen Nr. 12.

23. 8. 11. Infiziert subkutan auf beiden Hoden.
30. 9. 11. Erbsengroße Induration beiderseits.
30. 10. 11. Links Schanker 1 × 1 × 0,8 cm, rechts erbsengroße Induration.
15. 11. 11. Links Schanker 2 × 2,2 × 1,3 cm, rechts unverändert.
30. 11. 11. Links Schanker 2,5 × 2,5 × 1,7 cm.
18. 12. 11. Links Schanker 3,4 × 3,4 × 2,2 cm, rechts bohnengroße Induration.
24. 12. 11. Schanker links unverändert.
4. 2. 12. Unverändert.
16. 1. 12. Links Schanker 3,1 × 2,6 × 1,5, rechts haselnußgroße Induration.
27. 1. 12. Links unverändert; rechts an unterer Spitze des Hodens haselnußgroße Induration, in der Mitte des linken Hodens kleiner Schanker.
1. 2. 12. Links Schanker 3,4 × 2,8 × 1,5, rechts Induration 2 × 1,6 × 1,4 an der unteren Spitze des Hodens und Schanker 1,2 × 1,7 × 0,7. An Probepunktion sehr viele, gutbewegliche Spirochäten beiderseits. Gewicht des Kaninchens 3080 g. Das Tier erhält intravenös 6,16 ccm einer Verdünnung $^1/_{100}$ aus Neosalvarsan = **0,02 g** pro Kilo.
2. 2. 12. Ziemlich viele Spirochtäen beiderseits; alle aber unbeweglich und degeneriert.
3. 2. 12. Noch ziemlich viele unbewegliche Spirillen.
4. 2. 12. Schanker kleiner. Spirochätenbefund wie oben.
5. 2. 12. Links noch unbewegliche Spirochäten; der rechte Hoden herausgefallen; große eitrige Infiltration, Tier getötet.

Kaninchen Nr. 13.

4. 3. 11. Infiziert durch Skarifikation auf beiden Hoden.
25. 3. 11. Bohnengroße Induration mit kleinen Hauterosionen.
14. 4. 11. Charakteristische Schanker beiderseits; rechts 1,5 × 1 × 0,5, links 1 × 1 × 0,4.
24. 4. 11. Links Schanker 1,7 × 2 × 1,3, rechts Schanker 1,5 × 1,3 × 0,7.
5. 5. 11. Links Schanker 2 × 2,5 × 1,5, rechts Schanker 1.9 × 1,8 × 1,2. Photographie (siehe Tafel VIII, Fig. 1). Sehr viele gut bewegliche Spirochäten. Gewicht des Tieres 1800 g. Das Kaninchen erhält intravenös 5,4 ccm einer Verdünnung $^1/_{200}$ = **0,015 g** pro kg aus Neosalvarsan.
6. 5. 11. Schanker makroskopisch unverändert. Am Dunkelfeld — Beleuchtung: links wenige unbewegliche Spirochäten und einzelne langsam beweglich, rechts ziemlich viele unbewegliche Spirochäten und wenige langsam bewegliche noch einzelne ziemlich lebhaft beweglich.
7. 5. 11. Rechts wenige zerrissene unbewegliche Spirochäten, links keine Spirochäten mehr zu finden.
8. 5. 11. Einzelne unbewegliche degenerierte Spirochäten. Schanker kleiner und weicher beiderseits: rechts 1,5 × 1,5 × 0,9, links 1,7 × 2,1 × 1.

Tabelle X.

Wirkung des Neosalvarsans auf den Syphilis-

Kaninch. Nr.	Durchmesser der Schanker	Volumen der Schanker	Dosis pro kg	nach 24 Stunden		nach 48 Stunden	
				Spirochäten-befund	Schanker-volumen	Spirochäten-befund	Schanker-volumen
5	R. 2,9 × 2,4 × 1,6	11,14	0,04	—	—	—	6,55
	L. 2,7 × 2,3 × 1,7	10,56		—	—	—	4,75
6	R. 3,2 × 2 × 0,7	4,48	0,033	einzelne unbew. u. deg. Formen	—	—	—
	L. 3,3 × 2,6 × 1	8,58		einzelne unbew. u. deg. Formen	—	—	—
7	L. 2,5 × 2,5 × 1,3	6,25	0,03	unbewegl.	—	s. w. unbew.	—
8	R. 2,4 × 2 × 1,3	6,24	0,03	s. w. unbewegl.		s. w. unbew.	3,06
	L. 2,5 × 2 × 1,2	6,0		s. w. unbewegl.	--	s. w. unbew.	3,04
9	R. 1,8 × 1,4 × 1,7	2,52	0,03	—	—	—	--
	L. 1,5 × 1,5 × 1,4	2,25		—	—	...	—
10	R. 1,6 × 1,7 × 1,2	3,26	0,0225	s. w. unbewegl. degenerierte	—	—	1,96
	L. 1,8 × 2,6 × 1,9	8,89		s. w. unbewegl. degenerierte	—	—	3,64
11	L. 3 × 3 × 1,5	13,5	0,023	w. unbewegl.	--	s. w. unbew.	8,05
12	R. 2 × 1,6 × 1,4	4,48	0,02	ziemlich viele, alle aber unbew.		ziemlich viele unbeweglich	—
	L. 3,4 × 2,8 × 1,5	9.52		ziemlich viele, alle aber unbew.	—	ziemlich viele unbeweglich	—
13	R. 1 × 1,8 × 1,2	4,1	0,015	ziemlich viele unbewegl.	—	w. unbewegl.	--
	L. 2 × 2,5 × 1,5	7,5		w. langsam bew. einzelne langsam bewegl.	-	—	
14	R. 2 × 2,5 × 1,5	7,5	0.01125	einige langsam beweglich	—	wenige unbew.	--
	L. 2 × 2,5 × 1,4	7		einige langsam beweglich	—	wenige unbew.	—

9. 5. 11. Keine Spirochäten.
11. 5. 11. Links 1,5 × 1,8 × 1, rechts 1,5 × 1,4 × 0,7.
14. 5. 11. Links 1,2 × 1,3 × 0,7, rechts 1,4 × 1,3 × 0,7. Dicke trockene Kruste beiderseits. Keine Spirochäten.
17. 5. 11. Photographie (siehe Tafel VIII, Fig. 2).
23. 5. 11. Photographie (siehe Tafel VIII, Fig. 3).
3. 6. 11. Glatt. Photographie (siehe Tafel VIII, Fig. 4).

Tabelle X.

Schanker am Skrotum des Kaninchens.

am 3. Tag		am 4. Tag		am 5. Tag		
Spirochäten-befund	Schanker-volumen	Spirochäten-befund	Schanker-volumen	Spirochäten-befund	Schanker-volumen	
—	6,22	—	5,04	—	4,62	am 20. Tag glatt
—	3,96	—	2,9	—	2,9	
—	—	—	—	-	3,5	am 27. Tag glatt
—	—	—	—	—	4,2	
—	—	—	—	—	4,85	am 25. Tag glatt
—	2,56	—	2,13	—	—	am 28. Tag glatt
—	3,04	—	2,36	—	—	
—	—	—	0,81	—	—	am 24. Tag glatt
—	—	—	0,4	—	—	
—	—	—	—	—	1,24	am 29. Tag glatt
—	—	—	—	—	2,3	
einzelne unbew.	6,55	—	5,28	—	4,37	am 34. Tag glatt
ziemlich viele unbeweglich	—	unbewegliche	—	—	—	
ziemlich viele unbeweglich	—	Tier getötet	—	—	—	
einzelne unbew.	2,25	—	—	—	—	am 29. Tag glatt
—	3,57	—	—	—	—	
einzelne unbew. degenerierte	3,13	wenige unbew. degenerierte	—	—	—	am 26. Tag glatt
einzelne unbew. degenerierte	2,77	wenige unbew. degenerierte	—	—	—	

Kaninchen Nr. 14.

14. 3. 11. Infiziert subkutan auf beiden Hoden.

25. 3. 11. Erbsengroße Indurationen beiderseits.

6. 4. 11. Charakteristische Schanker, rechts 1,2 × 1,5 × 1, links 1,6 × 1,3 × 1,1, kleine Kruste und mäßige Randinfiltration.

14. 4. 11. Rechts Schanker 1,5 × 1,8 × 1, links 1,8 × 1,5 × 1,2.

24. 4. 11. Rechts Schanker 1,9 × 2,5 × 1,5, links Schanker 1,9 × 2,3 × 1,3. Beiderseits Inguinaldrüsenanschwellung.
3. 5. 11. Beiderseits Schanker 2 × 2,7 × 1,5 mit tiefer Kruste.
5. 5. 11. Rechts Schanker 2 × 2,5 × 1,5, links 2 × 2,5 × 1,4. Viele gutbewegliche Spirochäten. Photographie (siehe Tafel VIII, Fig. 1). Gewicht des Tieres 1690 g. Das Kaninchen erhält intravenös 3,8 ccm einer Verdünnung $^1/_{200}$ = **0,01125 g** pro Kilogramm aus Neosalvarsan.
6. 5. 11. Makroskopisch unverändert. Am Dunkelfeld beiderseits ziemlich viele unbewegliche Spirochäten und einige langsam bewegliche.
7. 5. 11. Wenige unbewegliche Spirochäten beiderseits.
8. 5. 11. Schanker rechts 1,5 × 1,9 × 1,1, links 1,4 × 1,8 × 1. Beiderseits einzelne unbewegliche degenerierte Spirochäten.
9. 5. 11. Noch wenige unbewegliche degenerierte Spirochäten.
10. 5. 11. Keine Spirochäten mehr zu finden.
11. 5. 11. Rechts 1,3 × 1,4 × 0,7, links 1,2 × 1,3 × 0,7.
14. 5. 11. Rechts 0,5 × 0,6, links 0,5 × 0,5. Beiderseits Hauterosion mit sehr schwacher Infiltration.
17. 6. 11. Photographie (siehe Tafel VIII, Fig. 2).
23. 5. 11. Ganz oberflächliche Narbe. Photographie (siehe Tafel VIII, Fig. 3).
31. 5. 11. Glatt beiderseits. (Photographie (siehe Tafel VIII, Fig. 4).
10. 6. 11. Glatt.

Das rasche Verschwinden der Spirochäten aus den Schankern habe ich neulich bei einem anderen Kaninchen beobachtet, welches eine große Dosis Neosalvarsan, und zwar 0,25 g pro Kilo intravenös erhielt. Von diesem Tier wurden vor der Injektion und in verschiedenen kurzen Zeiten nach der Einspritzung Präparate aus dem Schankersaft gemacht und diese wurden zum Teil frisch bei Dunkelfeldbeleuchtung beobachtet, zum Teil fixiert und mit den gewöhnlichen Methoden zum Demonstrationszweck gefärbt.

Kaninchen Nr. 15.

30. 9. 12. Infiziert subkutan auf beiden Hoden.
6. 10. 12. Erbsengroße Indurationen beiderseits.
6. 11. 12. Rechts Schanker von 2,1 × 2,5 × 1,5 cm, links Schanker 2,3 × 2,7 × 1,7.
8. 11. 12. Gewicht des Tieres 1600 g. Das Kaninchen erhält intravenös von 40 ccm einer Verdünnung $^1/_{100}$ aus Neosalvarsan = **0,25 g** pro Kilo.
11 Uhr vormittags sehr zahlreiche, gut bewegliche Spirochäten beiderseits.
Injektion:
$^1/_2$ Stunde nach der Injektion: Spirochätenzahl wie oben, vielleicht etwas mehr.
1 Stunde nach der Injektion: Spirochätenzahl unverändert, einige unbewegliche.
2 Stunden nach der Injektion: Zahl der Spirochäten sehr verringert.
3 Stunden nach der Injektion: Spirochäten noch weniger und meistens unbeweglich.

4 Stunden nach der Injektion: nur noch 2 unbewegliche Spirochäten in frischen Präparaten, in trockenen Präparaten keine Spirochäten mehr zu finden.
5 Stunden nach der Injektion: keine Spirochäten.
7 Stunden nach der Injektion: keine Spirochäten.

Die Dosis von 0,25 g Neosalvarsan pro Kilo, mit den obenerwähnten Vorsichten eingespritzt, wurde von dem Kaninchen Nr. 15 ganz gut vertragen. Am 10. 11. 12., d. h. 48 Stunden nach der Einspritzung war das Gewicht des Tieres noch 1600 g, auch in den folgenden Tagen ergab sich keine Abnahme des Gewichtes.

Aus dem Bericht dieses Kaninchens geht hervor, daß die intravenöse Injektion von Neosalvarsan in einer Dosis von 0,25 g pro Kilo das vollständige Verschwinden der Spirochäten aus den syphilitischen Erscheinungen am Skrotum dieses Kaninchen schon in 5 Stunden herbeigeführt hat.

Aus den obenerwähnten Protokollen, welche in Tabelle X zusammengefaßt sind, ergibt sich die sofort (binnen 24 Stunden) sterilisierende Dosis Neosalvarsan bei der Syphilis am Skrotum des Kaninchens als zwischen 0,03 und 0,04 g pro Kilo Gewicht schwankend. Dieses Resultat ist desto bemerkenswerter, wenn man bedenkt, daß das neue Präparat nur $^2/_3$ Salvarsan enthält, so daß unter dieser neuen Anwendungsform die sofort sterilisierende Dosis des Dioxydiamidoarsenobenzols zwischen 0,02 und 0,027 g variiert. Eine Dosis, die beinahe das Doppelte ist als jene, welche notwendig war für die Sterilisierung des Schankers, wenn die Darreichung unter der alten Anwendungsform erfolgte.

Neosalvarsan führt zu einer Heilung der syphilitischen Affektionen auch in geringeren Dosen, als sie notwendig sind für die vollständige und schnelle Sterilisation des Organismus. Bei den mit geringeren Dosen (bis 0,01125 g) behandelten Kaninchen hat man niemals Rückfälle beobachtet, obschon die Tiere Monate nach der vollständigen Heilung in Beobachtung gestanden haben.

Leichte Löslichkeit und Neutralität der Lösung bieten für das Neosalvarsan bemerkenswerte Vorteile.

Es ist zu hoffen, daß auf diese Weise die bei der Behandlung mit Dioxydiamidoarsenobenzol beklagten Nachteile vermieden werden können.

Die Neutralität der Lösung hat es ermöglicht, den Wirkungsvorgang dieses Präparates eingehender zu stu-

dieren: sie hat uns tatsächlich die Verankerung des Mittels durch die Chemozeptoren der Parasiten bei den Reagensglasversuchen gezeigt[1]) und es praktisch möglich gemacht, das Medikament auch auf lokalen[2]) und intralumbalen[3]) Wegen darzureichen.

Die neue Anwendungsform ermöglicht außerdem, mit den erforderlichen Vorsichten angewandt, eine größere Dosis Dioxydiamidoarsenobenzols als bisher verschiedenen Tieren auf intravenösem Weg zu geben.

Die heilende Wirkung des Neosalvarsans ist bei den syphilitischen Kaninchenschankern eine doppelt so große als die des Salvarsans.

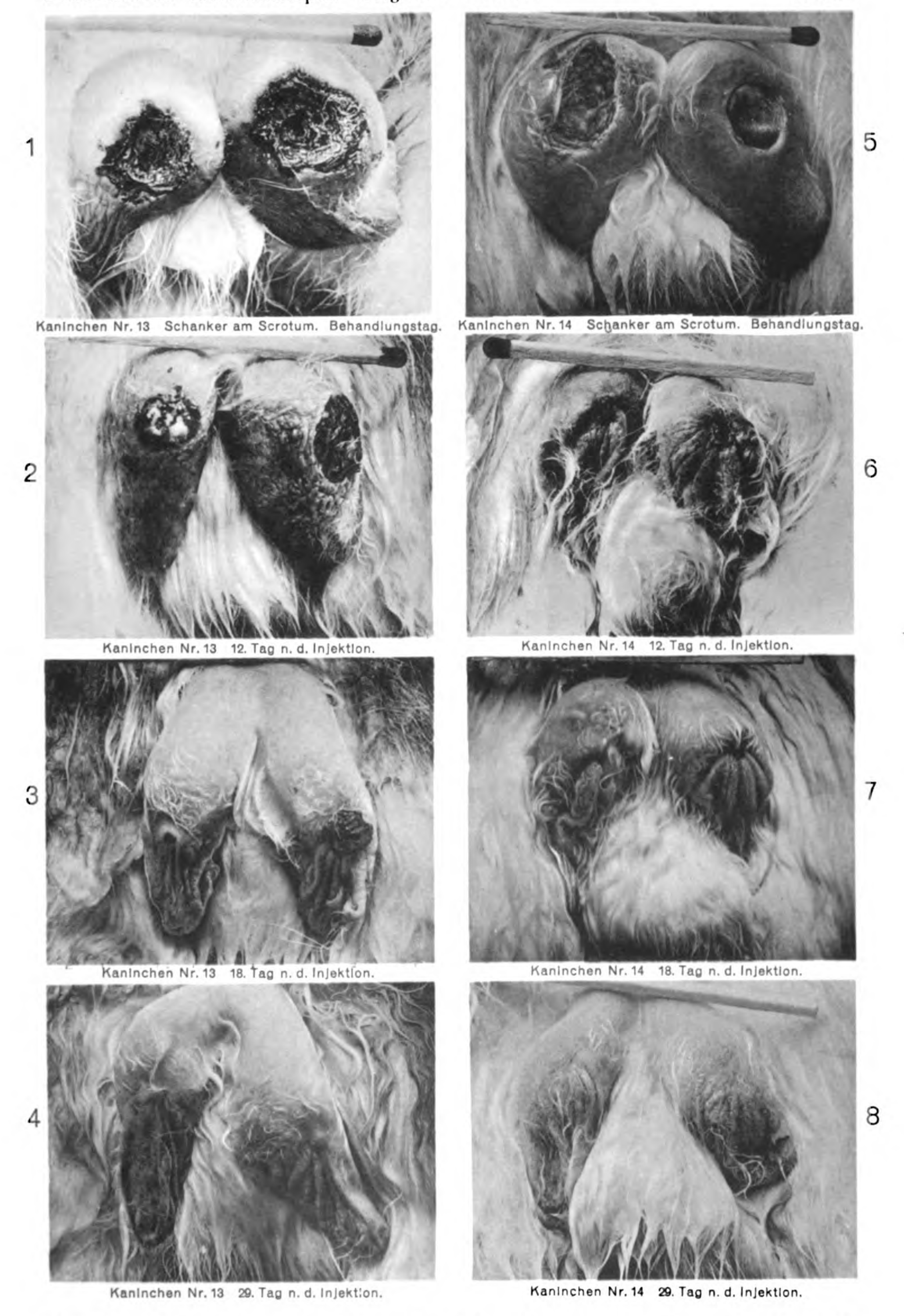
Bei anderen Spirillosen entspricht die heilende Wirkung des Neo- ungefähr derjenigen des Salvarsans. Nur durch die klinische Erprobung wird man sagen können, ob für die oben erwähnten Vorzüge auch in diesen Gebieten der menschlichen Pathologie die neue der alten Anwendungsform des Dioxydiamidoarsenobenzols vorzuziehen ist.

Erklärung zur Lichtdrucktafel.

Fig. 1. Skrotum des Kaninchen Nr. 13 am Tage der Behandlung.
„ 2. Dasselbe am 12. Tage nach der Injektion.
„ 3. „ „ 18. „ „ „ „
„ 4. „ „ 29. „ „ „ „
„ 5. Skrotum des Kaninchen Nr. 14 am Tage der Behandlung.
„ 6. Dasselbe am 12. Tage nach der Injektion.
„ 7. „ „ 18. „ „ „ „
„ 8. „ „ 26. „ „ „ „

---

[1]) Zeitschrift für Chemotherapie, Originale, Bd. I, Heft 2, 1912.
[2]) Deutsche medizinische Wochenschrift, Nr. 32, 1912.
[3]) Deutsche medizinische Wochenschrift, Nr. 35, 1912.



1 Kaninchen Nr. 13 Schanker am Scrotum. Behandlungstag.

5 Kaninchen Nr. 14 Schanker am Scrotum. Behandlungstag.

2 Kaninchen Nr. 13 12. Tag n. d. Injektion.

6 Kaninchen Nr. 14 12. Tag n. d. Injektion.

3 Kaninchen Nr. 13 18. Tag n. d. Injektion.

7 Kaninchen Nr. 14 18. Tag n. d. Injektion.

4 Kaninchen Nr. 13 29. Tag n. d. Injektion.

8 Kaninchen Nr. 14 29. Tag n. d. Injektion.

Dr G. Castelli, Frankfurt a.M. Verlag von Georg Thieme, Leipzig. Werner u. Winter, Frankfurt a.M



Aus der Königl. Universitäts-Augenklinik in Genua.
Beauftragter Direktor: Prof. F. Grignolo.

Zur Frage der toxischen Wirkung des Salvarsans.

Von

Prof. Dr. **Federico Grignolo.**

Im Bande I der „Zeitschrift für Chemotherapie usw." beschäftigt sich Igersheimer[1]) mit meiner experimentellen Arbeit über die „Wirkung des 606 auf das Auge"[2]) und erhebt zweierlei Einwände.

Da er 10 Kaninchen ziemlich bedeutende Quantitäten Salvarsan eingespritzt hatte, ohne daß Intoxikationserscheinungen auftraten, glaubt er die Störungen, welche die Kaninchen 1 und 2 meiner Versuche während des Lebens betroffen hatten, sowie ihren plötzlichen Tod nicht der toxischen Wirkung des Präparats zuschreiben zu sollen. Ferner legt Igersheimer die von mir im Augapfel dieser Kaninchen beschriebenen Verletzungen als postmortale Veränderungen aus.

Aus den Versuchen dieses Autors geht hervor, und damit wende ich mich gegen seinen ersten Einwand, daß sich seine Kaninchen nicht gegen Salvarsan empfindlich zeigten, wohl aber fünf Katzen und ein Hund. Diese Tiere wiesen sämtlich mehr oder minder schwere Störungen auf, die in geringerer Lebhaftigkeit, Abnahme der Freßlust, Unsicherheit der Bewegungen, Abmagerung bestanden und zum plötzlichen Tode führten (Katze Nr. 2 und 3, Hund). Sie waren mithin in der gleichen Weise beeinflußt wie meine Kaninchen, welche die Freßlust verloren, Unsicherheit auf den Hinterbeinen und starke Abmagerung aufwiesen und plötzlich verendeten.

Hinsichtlich der von mir bei den Kaninchen 1 und 2 meiner

---

[1]) Igersheimer, Zur Frage der toxischen Wirkung des Salvarsans. Zeitschr. für Chemotherapie und verwandte Gebiete. 1. Bd.

[2]) Grignolo, Dell' influenza del „606" sull' occhio. Pathologica 1911. Nr. 66.

Protokolle beschriebenen Netzhautveränderungen behauptet ferner Igersheimer, daß der Zellentartung (Homogenisation) nur Wichtigkeit beigelegt werden kann, wenn der Bulbus lebenswarm fixiert wird. Ich muß indes zuerst bemerken, daß Igersheimer anzunehmen scheint, ich hätte bei beiden Kaninchen die schon von ihm erwähnten Netzhautveränderungen beobachtet; allein tatsächlich wurden sie in ihrer höchsten Äußerung nur bei einem Kaninchen angetroffen und gerade bei jenem, dessen Bulbi ungefähr $1^1/_2$ Stunden nach dem Tode enukleiert worden waren, während jene des anderen Tieres, die einige Stunden post mortem fixiert worden waren, viel geringere Veränderungen zeigten, was schon annehmen läßt, daß es sich in diesem Falle nicht um einfache und reine Leichenveränderungen handelt. Die Veränderungen des Kaninchens 2 bestanden in Homogenisation der äußeren Körner, die sich mit den inneren vermengten und in die Stäbchen- und Zapfenschicht vorfielen — Zellstörungen, wie sie gewöhnlich dem Ödem zugeschrieben werden.

Es ist mir jetzt nicht möglich festzustellen, wieviele der von mir beobachteten Veränderungen nur von Salvarsan und wieviele von den postmortalen Umwandlungen, die in 90 Minuten nach dem Tode eintreten können, abhängen. Ich behalte mir die Aufklärung darüber vor, kann aber nicht umhin hervorzuheben, daß von den fünf Katzen der Untersuchungen Igersheimers fast alle intra vitam an mehr oder minder schweren allgemeinen Störungen litten: die erste zeigte in der Netzhaut Zelldegeneration an den Ganglienzellen und den Körnerschichten, sowie beginnenden Zerfall der Stäbchen und Zapfen, und im Sehnerv spärliche Marchi-Degeneration; die vierte sehr leichte Zelldegeneration mit schwacher, aber sicherer Marchi-Reaktion; die fünfte Zelldegeneration besonders in der inneren Körnerschicht (Homogenisation) und mittelstarke Marchi-Reaktion. Die Bulbi der zweiten (und dritten?) wurden nicht untersucht. Diese Tiere haben Veränderungen aufgewiesen, welche, abgesehen von jenen des Sehnervs, den bei meinen Kaninchen angetroffenen ähnlich sind. Freilich spielt bei meinen Präparaten das Ödem die hervortretendste Rolle, aber es sind jetzt zahlreiche klinische Beobachtungen bekannt, welche diese Tatsache nachweisen. Feyer[1]) behandelte unlängst drei Individuen mit Salvarsan und fand bei der ophthalmoskopischen Untersuchung bei zwei derselben

[1]) Feyer, Auge und Salvarsan. Berlin. klin. Wochenschrift 15. 1912.

eine außerordentliche Exsudation der einseitigen Papille und bei dem anderen auch eine Iridochorioiditis, als ob in der Tat das Salvarsan entzündlich und exsudativ wirke.

Wenn mithin die Versuchskatzen Igersheimers intra vitam allgemeine Störungen und einige bei der mikroskopischen Untersuchung Veränderungen in der Netzhaut und im Sehnerv aufwiesen, erscheint die Annahme nicht sehr gewagt, daß auch die intra vitam bei meinen Versuchskaninchen 1 und 2 aufgetretenen, den Erkrankungen der Versuchskatzen Igersheimers ähnlichen Störungen durch die toxische Wirkung des Salvarsans verursacht wurden.

Ebenso ist die Folgerung logisch, daß, wenn wirklich bei meinen beiden Kaninchen, welche allgemeine, den Erkrankungen der Versuchskatzen Igersheimers ähnliche Störungen aufwiesen, sich Netzhautveränderungen vorfanden, teilweise ähnlich jenen von Igersheimer bei seinen Katzen beobachteten, die Annahme des Bestehens der gleichen Ursache bei den einen und bei den anderen sich geltend macht.

So wie das Salvarsan bei einigen meiner Versuchstiere Intoxikationserscheinungen mit nachfolgendem Tode auslöste, kann es auch für die bei denselben beobachteten Augenerkrankungen verantwortlich gemacht werden.

Es ist bekannt, daß sich verschiedene Tiergattungen für gewisse Intoxikationen verschieden empfindlich zeigen. Ebenso besteht ein großer Unterschied in der individuellen Widerstandskraft der Tiere; die Folgerung ist daher nicht abzuweisen, daß, da unter Bezugnahme auf die Untersuchungen Igersheimers Katzen besonders gegen Salvarsan empfindlich sind, es auch die Kaninchen unter gewissen von der Rasse oder von der individuellen Anlage abhängigen Bedingungen werden können, z. B. durch die Bereitungsweise oder die Art der Verabreichung des Präparates usw., und zwar in derselben Weise, wie bei den mit Salvarsan behandelten Menschen einige wenige an Augenerkrankungen gelitten hatten und andere, und zwar die meisten, nicht davon ergriffen waren.

Ich halte mithin dafür, daß die interessanten Untersuchungen Igersheimers meine Befunde bestätigen und vervollkommnen, sowie die einen und die anderen die beim Menschen beobachteten pathologisch-anatomischen und klinischen Erscheinungen rechtfertigen.



Aus dem Institut für Krebsforschung in Heidelberg.
(Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Czerny, Exz.)

Experimentelle Beiträge zur Chemotherapie der malignen Geschwülste.

Von

Prof. Dr. **R. Werner** und Dr. **St. Szécsi.**

Mit einem Beitrag von Dr. **Paul Schneider,**
1. Assistenten des pathologischen Instituts in Heidelberg.

Mit 5 farbigen Tafeln.

Erste Mitteilung.

Die moderne Krebstherapie verfügt über eine ganze Anzahl von Behandlungsmethoden, die sich nach der Art der verwendeten Mittel in 2 Gruppen teilen lassen: in chemische und physikalische Verfahren. Zur letzteren zählen wir in erster Linie die mechanische Entfernung der Geschwülste auf chirurgischem Wege, die schon seit alters her durch chemische Wirkungen unterstützt wurde, indem man die Durchtrennung der Gewebe durch Glühkörper besorgte, um die Ausstreuung der Krebskeime zu verhüten. Neuerdings verwendet man zu diesem Zwecke den elektrischen Lichtbogen der de Forestschen Nadel. Wenn eine Entfernung des Tumors nicht mehr möglich ist, dann tritt unter bestimmten Umständen die partielle Zerstörung der Geschwulstmassen durch thermische resp. elektrothermische Methoden (Thermokauterisation, Thermopenetration), ferner durch Anwendung abnormer Kältegrade (Psychrokaustik) in ihre Rechte. In besonders glücklichen Fällen gelingt es auch auf diesem Wege, operable Tumoren rasch und unblutig radikal zu beseitigen.

Eine eigenartige Unterstützung der operativen Methoden gewährt die Elektrotherapie in Form der Fulguration oder Scintillation (Dunkelfulguration), indem die Umgebung des Operationsfeldes durch Applikation von intensiven oder milden Funkenbüscheln zu lebhafter Granulationsbildung angeregt wird, wodurch nicht nur eine raschere Ausfüllung des Defektes erzielt, sondern event. auch eine Abkapselung oder Vernichtung zurückgebliebener Geschwulstkeime

herbeigeführt wird. Dieselben Methoden führen auch zur raschen Reinigung und Überhäutung von Krebsgeschwüren. In anderer Weise dient die thermoelektrische Behandlung zur Ergänzung des chirurgischen Verfahrens. Man kann nämlich durch Thermopenetration das Wundbett mäßig erhitzen, so daß die labileren Geschwulstzellen der Nachbarschaft zugrunde gehen, die resistenteren Körperzellen aber erhalten werden. Es ist dies jedoch praktisch nur für eine verhältnismäßig dünne Gewebsschicht durchführbar, da man sonst an der Oberfläche zu hohe Hitzegrade anwenden muß, oder in der Tiefe eine zu geringe Wirkung erhält.

Eine sehr ausgedehnte Verwendung finden bei der Behandlung der Neubildungen die verschiedenen Formen der Strahlen. Während jene des Lichtes nur für die oberflächlichsten Epitheliome, insbesondere das Ulcus rodens geeignet sind, kann man mit Hilfe der Strahlen des Röntgenapparates und der radioaktiven Substanzen auch tiefergreifende oder tiefgelegene Geschwülste beeinflussen. Was speziell die Röntgenstrahlen anbelangt, so haben sie eine außerordentlich mannigfache Verwendungsmöglichkeit. Man kann mit ihrer Hilfe bestehende Geschwülste behandeln, wobei man neuerdings eine immer vollkommenere Tiefenwirkung zu erzielen vermag und überdies gelernt hat, im Innern des Leibes gelegene Geschwülste durch operative Maßnahmen an die Oberfläche vorzulagern und dadurch den Strahlen zugänglicher zu machen, ferner die Tumoren gegen Strahlenwirkung zu sensibilisieren und ihre deckenden Hüllen zu desensibilisieren. Man kann außerdem die Röntgenstrahlen dazu verwerten, die Umgebung des Operationsfeldes nach Entfernung der Geschwülste von Tumorkeimen zu sterilisieren, oder an der Grenze der Operabilität stehende Neubildungen zu verkleinern und dadurch event. operabel zu machen.

Ganz Analoges kann man mit Hilfe der radioaktiven Substanzen erzielen, nur hat man hier noch die Möglichkeit, außer der äußeren Bestrahlung mit flächenhaften Bestrahlungskörpern, auch noch eine innere (in Wund- oder Leibeshöhlen) mit Hilfe von Bestrahlungsplättchen oder Tuben oder auf dem Wege der lokalen Injektion, unter Umständen auch durch Einspritzung in die Blutbahn vorzunehmen.

Zweifelsohne ist die Strahlentherapie die bedeutsamste Ergänzung der chirurgischen Behandlungsmethoden. Sie beruht auf der Tatsache, daß speziell die Zellen der Neubildungen in vielen Fällen gegen die Strahlenwirkung empfindlicher sind, als die Ele-

mente des benachbarten Körpergewebes. Allein diese Differenzierung ist häufig keineswegs eine so deutliche, daß die Therapie leichte und sichere Erfolge erringen könnte. Aber die Beeinflussungen, welche man bei derartigen therapeutischen Versuchen beobachten konnte, und die immerhin in einem wenn auch bescheidenen Prozentsatze zu erfreulichen Heilerfolgen führten, haben insofern eine große Bedeutung erlangt, als sie mit der Anschauung gebrochen haben, die früher herrschte, daß man die Neubildungen nur durch Entfernung auf mechanischem oder Zerstörung auf thermischem Wege bekämpfen könne.

Sie sind ferner der Ausgangspunkt neuer, ganz ungeahnter, ganz unvorhersehbarer chemotherapeutischer Bestrebungen geworden, die den eigentlichen Inhalt unserer Mitteilung bilden sollen.

Die Versuche einer Chemotherapie des Krebses sind schon alten Datums; schon seit langem hatte man verschiedene Ätzmittel angewandt, um mit ihrer Hilfe die Geschwulstzellen rasch zur Koagulation zu bringen. Das Bestreben, eine möglichst elektive Wirkung auf die erkrankten Gewebe zu erzielen und die gesunden Organteile zu schonen, führte zu einem Ausbau der Ätztechnik, die für manche Zwecke wertvolle Resultate lieferte, aber in jüngster Zeit durch die langsam wirkende, schmerzlose und immerhin nicht minder elektive Strahlenkaustik verdrängt wurde.

In jüngster Zeit hat Zeller durch eine Verbesserung der alten Arsenpaste anscheinend beachtenswerte Erfolge erzielt, doch ist ein Urteil über die Leistungsfähigkeit der Methode, insbesondere über die Intoxikationsgefahr und die Möglichkeit der Vermeidung starker Arrosionsblutungen, vorläufig noch nicht zu fällen.

Im Gegensatze zu den ersten Mitteilungen Zellers scheint nach unserer Erfahrung diese Paste übrigens auch nicht elektiver zu sein als die früheren; auch sie greift außer dem Geschwulstgewebe die gesunden Körperzellen der Umgebung an.

Zweifelsohne besteht zwischen den Wirkungen der Ätzmittel und jenen der äußeren lokalen Bestrahlungen eine gewisse Parallele, doch sind die Strahlen hinsichtlich der Annehmlichkeit und Mannigfaltigkeit der Applikationsform weit überlegen. Während man z. B. die strahlenden Substanzen vielfach auf dem Wege der Injektionen intratumoral oder in den Blutkreislauf einzubringen vermag, ist es bekanntlich nicht ohne weiteres möglich, die lokal verhältnismäßig günstig wirkenden Ätzmittel einzuspritzen und dadurch in weiterem Umkreise wirksam zu machen. Es ist daher ein wichtiges Problem,

die chemische Vernichtung der Tumorzellen hinsichtlich ihrer Anwendungsmöglichkeiten ebenso vielseitig auszugestalten, wie dies hinsichtlich der Strahlungen geglückt ist.

Wenn wir im folgenden eine kurze Übersicht der bisherigen Leistungen auf dem Gebiete der chemotherapeutischen Behandlung der malignen Geschwülste geben wollen, so geschieht dies aus dem Grunde, weil nur dadurch der Leitgedanke unserer Versuche verständlich wird.

Es wurden schon früher eine ganze Reihe von Chemikalien empfohlen, doch lassen alle diese Methoden die erste Bedingung vermissen, die ein chemotherapeutisches Mittel zu erfüllen hat, nämlich in dem Sinne spezifisch zu wirken, daß das angewandte Mittel eben nur diejenigen Zellen schädigt, die erkrankt sind, die gesunden Körperzellen aber im wesentlichen unbeeinflußt läßt. Während dieses Prinzip für bakterielle Infektionen sowie für parasitäre Erkrankungen, insbesondere durch die genialen Arbeiten Ehrlichs erreicht werden konnte, war dies für die malignen Geschwülste nur in einem sehr beschränkten Umfange möglich. Bei parasitären Erkrankungen, z. B. bei der Syphilis, müssen die chemotherapeutisch angewandten Mittel nur parasitotrop sein, ohne organotrop oder zytotrop zu sein; dieses Ziel ist aber deshalb relativ leicht zu erreichen, weil die zu schädigenden Zellen, die Spirochäten, körperfremd sind, während dies bei den malignen Geschwülsten nicht zutrifft. Wir wissen ja noch gar nicht, was die Ursache der malignen Geschwülste ist, und kämpfen gewissermaßen gegen einen unbekannten Feind. Ist, wie man oft behauptet, ein Erreger der malignen Geschwülste vorhanden, welcher eo ipso körperfremd sein muß, so hat die Chemotherapie der malignen Geschwülste unter denselben Umständen dieselben Bedingungen zu erfüllen, wie die Chemotherapie der Syphilis. Entstehen aber die malignen Geschwülste nicht durch den Einfluß eines körperfremden Lebewesens, so ist die Aufgabe der Chemotherapie hier eine bedeutend schwierigere, indem wir ein Mittel finden müssen, welches körpereigene Zellen zu schädigen imstande ist, ohne dabei andere zu beeinflussen, welche ebenfalls körpereigen, aber durch die Art ihres Wachstums von den zu schädigenden Zellen unterschieden sind. Es wurde bis in die letzte Zeit bezweifelt, daß eine derartig elektive Beeinflussung der Tumorzellen möglich sei, doch scheinen die Arbeiten der letzten, vielmehr allerletzten Jahre hoffnungsvoller zu sein, indem eine ganze Reihe von Mitteln gefunden worden ist, die

imstande sind, die Tumoren elektiv zu zerstören. Als ein Beweis dafür, daß die Tumorzellen überhaupt elektiv zu beeinflussen sind, dürfen wir auch die Arbeiten von Uhlenhuth begrüßen, der Substanzen gefunden hat, die das Wachstum der Tumoren beschleunigen. Doch das Ziel der Chemotherapie ist nicht eine Beschleunigung, sondern eine Hemmung des Wachstums der Tumorzellen. Um dies zu erreichen, sind verschiedene Wege gezeigt worden. So konnte Reicher durch paratumorale Adrenalineinspritzungen Rattensarkome und Mäusekarzinome zum Verschwinden bringen. Es ist allerdings dabei fraglich, ob die Heilung der Tumoren durch einen chemischen Einfluß des Adrenalins oder durch dessen anämisierende, vasokonstriktorische Eigenschaft hervorgerufen wurde, doch scheinen die letzten Untersuchungen von Engel mehr die Ansicht Reichers zu bestätigen, daß nämlich das Adrenalin eine primär toxische Wirkung auf die Tumorzelle selbst besitzt, während es für die übrigen Körperzellen relativ indifferent ist.

Wir übergehen die verschiedenen mehr oder minder erfolgreichen Versuche von Mosetig-Moorhof (Methylenblau und Pyoktanin), Oestreich (chondroitinschwefelsaures Natrium) sowie die verschiedenen Experimente, die darauf hinausgehen, das Arsen als therapeutisches Agens für die malignen Geschwülste zu benutzen. Von diesen Arsenversuchen, die ihre Erklärung in der gewebstötenden Eigenschaft des Arsens finden, wollen wir hier kurz nur zwei erwähnen: die Versuche Blumenthals mit Atoxyl und jene von Czerny und Caan mit Salvarsan.

Die Chemotherapie der malignen Geschwülste wurde eigentlich erst richtig in Schwung gebracht durch die im letzten Jahre veröffentlichten Mitteilungen von Wassermann und Keysser sowie von Neuberg und Caspari. Da unsere Versuche ähnliches erstreben wie die Wassermannschen und Neubergschen, wollen wir die Grundlage dieser Experimente etwas näher betrachten. Wassermanns Versuche basieren auf den Feststellungen eines italienischen Autors namens Gosio, der konstatieren konnte, daß Lösungen von Natrium selenicum und Natrium telluricum Krebszellen schneller und stärker ausfällen als normale Zellen, und daß sich die Selen- und Tellurkörnchen mit Vorliebe in der Nähe des Kerns lagern.

Auf Grund dieser von Gosio gemachten Beobachtungen versuchte Wassermann zunächst mit Natrium selenicum und Natrium telluricum, und zwar durch intratumorale Einspritzung derselben

die Geschwülste der Mäuse zum Verschwinden zu bringen. Dies gelang ihm auch in einigen Fällen, doch erwies sich das Präparat als äußerst giftig, und außerdem war Wassermann mit dem Resultat der intratumoralen Einspritzung deshalb nicht zufrieden, weil er geplant hatte, durch intravenöse Einspritzung elektiv und nicht nur lokal die Tumoren zu beeinflussen. Im Grunde genommen ist dieses Verfahren auch nur eine Ätzung, wie man sie durch äußerlich angewandte Mittel erreicht, nur erzielt man durch die intravenöse Einspritzung eine „innere“, vielleicht sogar „intracelluläre“ Ätzung. Es gelang auch Wassermann und Keysser, ein solches Mittel zu finden in einer Eosinselenverbindung, deren genaue Formel sie bis jetzt nicht mitgeteilt haben. Durch intravenöse Einspritzung dieses Mittels konnten sie eine Reihe von Impfgeschwülsten zum Verschwinden bringen. Sie bezeichneten in der Eosinselenverbindung das Selen als wirksames Mittel (gewissermaßen als Spezifikum) und das Eosin als Transporteur, welcher die Aufgabe hat, das spezifisch wirksame Selen in die Tumoren zu bringen. Die Wichtigkeit der Wassermannschen Versuche liegt in folgenden 2 Punkten: 1. diese Versuche beweisen, daß es möglich ist, Substanzen zu finden, die direkt entwicklungshemmend, ja zerstörend auf die Geschwulstzellen wirken; 2. sie beweisen, daß diese Wirkung stattfinden kann, ohne daß das eingeführte Mittel andere Körperzellen, mit denen es ja gleichfalls in Berührung kommt, schädigt.

Neben den grundlegenden Arbeiten von Wassermann und Keysser haben auch noch die Arbeiten von Neuberg und Caspari die moderne Chemotherapie der Geschwülste in neue Bahnen gelenkt. Neuberg und Caspari gingen von der Überlegung aus, daß gewisse Schwermetallverbindungen, insbesondere wenn sie in kolloidaler Form appliziert werden, die Autolyse der Tumoren fördern. Sie versuchten deshalb durch Einspritzung von solchen kolloidalen Schwermetallverbindungen die Mäusetumoren zu beeinflussen, und es gelang ihnen tatsächlich, den Nachweis zu erbringen, daß es Substanzen gibt, die spezifisch elektiv auf die Tumorzellen wirken, sie zur Auflösung bringen. Sie nannten diese Substanzen deshalb „tumoraffine Substanzen“. Biologisch interessant ist die rapide Wirkung dieser angewandten Mittel, die auch ein direkter Beweis für ihre spezifische Tumoraffinität ist. Neuberg und Caspari hatten eine große Reihe von Schwermetallen untersucht und als die wirksamsten die Verbindungen von Kupfer und Zinn bezeichnet. Wir werden auf diese Frage der Einwirkung von Kolloiden auf

die Tumoren noch etwas näher eingehen müssen. Unsere therapeutischen Versuche besitzen insofern eine Verwandtschaft mit den Versuchen von Neuberg und Caspari, daß wir ebenfalls kollodiale Metalle verwenden, wenn auch in einer andern Form zu einem andern Zweck, als dies Neuberg und Caspari tun. Auf gleicher Basis beruhen die therapeutischen Versuche von Izar, der kolloidalen Schwefel angewandt hat. Auch wir hatten bereits in unserer ersten kurzen Mitteilung in der Medizinischen Klinik (1912, Nr. 23) unsere Versuche mit kolloidalem Schwefel resp. As_2S_3 erwähnt. Izar schließt aus seinen Versuchen, daß durch einmalige intravenöse Injektion von 0,5 ccm ungiftigen Schwefelkolloids bei Sarkomratten je nach der Größe der Geschwulst ein vollständiger oder partieller Rückgang, Wachstumshemmung, Einschmelzung des Tumors zu erzielen sei.

Auf die verschiedenen Versuche mit kolloidalem Selen wollen wir erst später unten eingehen und die bereits ziemlich große Zahl derselben in direktem Zusammenhang mit unseren eigenen Experimenten besprechen. Hier wären noch die Versuche von Goldzieher zu nennen, der am Pathologentag in Straßburg 1912 über seine Experimente berichtet hat. Er machte therapeutische Versuche mit Ovarium- und Hodenextrakten, mit Thyreoidin, Adrenalin, doch all diese Versuche waren völlig negativ. Positives Resultat konnte Goldzieher durch die Behandlung mit Parathyreoidin erzielen. Sehr interessant sind die Versuche Goldziehers, durch welche er die Wirkung von Parathyreoidin durch Zusatz von Calcium und Kalium beeinflussen wollte. Es gelang ihm in der Tat durch gleichzeitige Behandlung mit Calcium und Parathyreoidin eine geringe Kumulation der Wirkung zu erzielen, während durch gleichzeitiges Anwenden von Kalium und Parathyreoidin die Wirkung des letzteren abgeschwächt wurde. In Betreff der Tatsache, daß es auch uns gelungen ist, durch gleichzeitige Anwendung zweier Mittel eine Kumulation der Wirkung zu erzielen, halten wir diese Versuche Goldziehers auch für unsere Resultate für äußerst wichtig.

Während all diese hier nur kursorisch behandelten Methoden von rein chemischen bzw. pharmakologischen Überlegungen oder Erfahrungen ausgehen, schließen sich unsere Versuche zum Teil an physikalische Methoden an, denn der Ausgangspunkt unserer Versuche waren die von Werner bereits im Jahre 1904 begonnenen Experimente, die Röntgentherapie bzw. den Einfluß der Röntgenstrahlen durch chemische Mittel zu verstärken.

So wertvoll die eigenartige, in gewissem Grade elektive Wirkung der Strahlen auf das Tumorgewebe für die Behandlung zirkumskripter Geschwülste geworden ist, so hat diese Methode doch den einen Nachteil, daß sie in dem Momente, in welchem das Leiden die engen Grenzen des einzelnen Organes überschritten hat, versagt, da wie bei allen physikalischen Agentien eine Wirkung nur dort zu erzielen ist, wohin man das betreffende Mittel zu applizieren vermag. Ferner ist der Strahlentherapie durch die große Empfindlichkeit der Haut und durch die starke Abschwächung des in die Tiefe dringenden Strahlenkegels hinsichtlich der Dosierung eine enge Grenze gezogen. Man ist allerdings in der Lage, durch Einspritzung radioaktiver Substanzen in die Tumoren oder in die Blutbahn (Czerny) den Gesamtkörper oder zum mindesten den Erkrankungsherd sozusagen von innen her der Strahlenwirkung auszusetzen, wie dies durch Injektionen von Radiumsalz-, Radiumemanations- oder Thorium x-Lösung geschieht, allein die verhältnismäßig hohe Giftigkeit dieser Substanzen, die keineswegs nur auf dem Radioaktivitätsgrade derselben beruht, zwingt zu großer Vorsicht, so daß nur in besonders günstigen Fällen ein nennenswerter Erfolg zu erzielen ist. Aber daß hier die in den Körper eingeführte Radioaktivität wie ein chemisches Mittel im Erkrankungsherde oder im ganzen Körper sich ausbreitet und die Tumoren zu beeinflussen vermag, gibt einen wichtigen Fingerzeig dafür, daß chemisch wirkende Substanzen, welche eine ähnliche Wirkung haben wie die Strahlen, denen aber eine geringe Eigengiftigkeit zukommt, für die Tumortherapie nicht bedeutungslos sein können.

Die Möglichkeit, derartige Substanzen zu finden, ist durch ältere Versuche gegeben.

Im Jahre 1904 existierten zwei Theorien der Strahlenwirkung. Die eine derselben, welche von Neuberg herrührt, behauptete, daß die Strahlen die wichtigsten Fermente des Stoffwechsels vernichten, die autolytischen Fermente aber erhalten oder sogar in ihrer Wirksamkeit steigern. Neuberg stützte diese Anschauung einerseits auf die Beobachtung mehrerer anderer Autoren (Henry—Mayer, Schmidt—Nielsen), denen es gelungen war, verschiedene Fermente durch Bestrahlen unwirksam zu machen, anderseits auf eigene Untersuchungen, aus denen hervorging, daß die überlebenden bestrahlten Gewebe sich von den spontan autolysierten nur durch die Qualität, nicht durch die Quantität der Zersetzungsprodukte unterscheiden. Er schloß daraus, daß die Strahlenwirkung nichts anderes

sei, als eine beschleunigte Autolyse nach Störung des fermentativen Stoffwechsels. Demgegenüber aber hob Werner hervor, daß die Strahlenmengen, welche schon zur völligen Vernichtung des Gewebes ausreichen, noch keineswegs genügen, um wesentliche Veränderungen an den bekannten Fermenten hervorzurufen. Ferner wurde von anderer Seite nachgewiesen, daß eine Beschleunigung der Autolyse nach der Bestrahlung keineswegs immer im erheblichen Umfange eintritt (H. Meyer—Fr. Bering). Man muß daher die Beeinflussung des fermentativen Stoffwechsels, wenn man ihr auch eine gewisse Rolle beim Prozesse der Strahlenwirkung zuschreiben darf, doch nur als einen Teilfaktor derselben betrachten, wobei die Beschleunigung der Autolyse nichts anderes darstellt, als einen schnelleren Ablauf des gewöhnlichen Zerfalles, den alle absterbenden Zellen, deren Protoplasma nicht koaguliert ist, durchmachen und der auch durch andere Mittel (Jod, Kolloide usw.) gesteigert werden kann.

Die zweite Theorie hat Schwarz aufgestellt, der nach Bestrahlung von Hühnereiern mit Radium feststellen konnte, daß in der unmittelbaren Nachbarschaft des Dotters die stärksten Wirkungen auftreten, während sich gleichzeitig Trimethylamingeruch entwickelt. Er schloß daraus, daß das Lecithin des Dotters den hauptsächlichsten Angriffspunkt für die Strahlen bildet, von diesen zersetzt wird, und daß seine Zerfallsprodukte durch ihre Giftwirkung die Zerstörung des Gewebes hervorrufen. Er konnte auch Lecithin durch direkte Bestrahlung zersetzen. Werner prüfte diese Versuche nach und konnte den Einfluß der Strahlen (speziell des Radiums, später auch der Röntgenstrahlen) auf das Lecithin bestätigen, fand aber auch hier, daß zur Dekomposition des Lipoids weit höhere Strahlenmengen nötig sind, als sie zur Vernichtung der Gewebe genügen. Später wurde festgestellt, daß die verschiedenen Strahlenarten der radioaktiven Substanzen, sowie auch die Röntgenstrahlen in verschiedenem Grade das Lecithin anzugreifen vermögen. Mesernitzki konstatierte, daß speziell die α-Strahlen des Radiums in ganz besonders hohem Maße wirksam sind. Ferner wurde von Werner konstatiert, daß auch dann, wenn die Lipoide nicht nachweisbar zerstört waren, dennoch insofern eine Veränderung sich zeigte, als diese Substanzen gegen Eingriffe, welche sie zu zersetzen vermögen, insbesondere gegen fermentative Beeinflussungen, labiler geworden waren.

Neuberg hatte angenommen, daß die Zersetzung des Lecithins in demselben nichts anderes sei als eine Folge der Autolyse.

Werners Untersuchungen aber ließen es als möglich erscheinen, daß auch die direkte Labilisierung der Lipoide durch die Strahlen insofern eine Rolle spielt, als die Lipoide gegen die Wirkung der Fermente empfindlicher gemacht werden und daher auch leichter der Autolyse anheimfallen. Die Entscheidung brachten zugunsten der Anschauung Werners Versuche von Mesernitzki, der nachwies, daß auch gekochte Eier, welche der Autolyse nicht mehr unterliegen können, nach der Radiumbestrahlung eine tiefgehende Zersetzung des Lecithins zeigen.

Um die Rolle der Lipoidzersetzungsprodukte beim Prozesse der Strahlenwirkung zu analysieren, spritzte Werner bestrahltes Lecithin bei Tieren ein. Wenn die Injektion dicht unter die Epidermis vorgenommen wurde, entwickelte sich nach einer 6—8tägigen Latenzzeit eine zirkumskripte Entzündung der Haut, die je nach der Stärke der Zersetzung des verwendeten Lecithins und nach der Menge desselben verschieden stark wurde und zum Haarausfall, zu brauner Pigmentierung, zur Blasenbildung und schließlich zu einer speckigen Nekrose der Epidermis führte. Bei einiger Übung konnte man die verschiedenen Stufen der Radiodermatitis (zum Teile auch unter Einhaltung der denselben entsprechenden Latenzzeit) makroskopisch, wie im histologischen Bilde nach Belieben imitieren. Werner nannte daher das Verfahren eine „chemische Imitation der Strahlenwirkung". Weiterhin wurde festgestellt, daß auch eine Mischung der verschiedenen Zersetzungsprodukte des Lecithins, gleichviel auf welchem Wege sie gewonnen waren, dasselbe leistete wie das bestrahlte Lecithin, und schließlich, daß von diesen verschiedenen Zerfallsprodukten speziell das Cholin die wichtigste Rolle spielte (Werner, Exner und Zdarek).

Es wird vielleicht nicht ohne Interesse sein, an dieser Stelle einiges über die Cholinwirkung kurz zu resumieren. Das Cholin kommt, wie es aus den Versuchen von Glomann, Fürth und Schwarz, Schwarz und Lederer, Gautrellet, Böhm, Kutscher, Vincent und Kramer, Letsche und Jakobson bekannt ist, in fast allen Organen in größeren oder kleineren Quantitäten vor. Wenn es auch wichtig ist, daß das Cholin in fast allen Organextrakten nachzuweisen ist, so wollen wir aus der großen Reihe der diesbezüglichen Untersuchungen nur auf diejenigen von Fürth und Schwarz besonders hinweisen, die zeigten, daß die Blutdrucksenkung, welche nach Injektion von Schilddrüsenextrakten zur Beobachtung gelangt, mit dem Cholin zusammenhängt. Das reine

Cholin, also das Cholinum basicum, wie es anfangs von Werner angewandt wurde, erzeugt ein charakteristisches Vergiftungsbild: „Man beobachtet eine starke Blutdrucksenkung, Ungerinnbarkeit des Blutes, heftige Darmperistaltik, zuweilen Krämpfe, sowie stets eine lebhafte Sekretion von Speichel, Magensaft, Pankreassaft, Galle und Tränenflüssigkeit. Die Blutdrucksenkung ist durch eine Gefäßerweiterung und eine Blutstauung im Herzen bedingt. Nach vorangegangener Atropinisierung bewirkt das Cholin statt einer Blutdrucksenkung eine Blutdrucksteigerung. Dieselbe ist vielleicht durch eine Lähmung der dilatatorischen Elemente in der Gefäßwand bedingt, wodurch ein konstriktorischer Effekt auf die glatten Muskeln in den Vordergrund tritt. Am isolierten Darme oder Uterus entfaltet das Cholin eine physostigminartige Wirkung. Es ist nicht ganz klargestellt, inwieweit ein Teil des Vergiftungsbildes mit der durch die Gefäßerweiterung bedingten Hirnanämie unmittelbar zusammenhängt.“ (Fürth, Probleme der physiologischen und pathologischen Chemie, I. Bd., S. 186—187.) Wenn Fürth und mit ihm viele andere die Ursache der Blutdrucksenkung durch Organextrakte dem Cholingehalt derselben zuschreiben, so bestreiten andere, insbesondere Busquet und Pachen, daß die vasodilatatorische Wirkung der Thymus-, Thyreoidea- und Pankreasextrakte durch den Cholingehalt derselben bedingt sei.

Für die Erklärung unserer therapeutischen Versuche hat eigentlich von den genannten physiologischen Eigenschaften des Cholins nur die vasodilatatorische eine gewisse Bedeutung, die anderen kommen nur als Nebenwirkungen in Betracht. Das Cholin hat aber außerdem noch andere interessante Eigenschaften. So berichteten z. B. Hippel und Pagenstecher, sowie Werner und v. Lichtenberg, über den Einfluß des Cholins auf die Gravidität. Ferner führen Benjamin und Sluka, sowie Albers-Schönberg und Frieben aus, daß durch Röntgenbestrahlung die Zeugungsfähigkeit und Libido bei männlichen Kaninchen zum Erlöschen gebracht werde. Benjamin und Sluka nehmen an, daß die durch die Röntgenbestrahlung hervorgerufenen Veränderungen durch den Umstand bedingt sind, daß durch die Röntgenbestrahlung das Lecithin gespalten und Cholin frei gemacht wird, ferner, daß die Veränderungen in den Geschlechtsdrüsen nur indirekt durch die Röntgenstrahlen, direkt aber durch das Cholin hervorgerufen werden, wie das im übrigen auch Werner und v. Lichtenberg sowie Exner und Sywek schon vorher behauptet haben.

Von anderen die Cholinwirkung betreffenden Arbeiten möchten wir noch jene aus der II. chirurgischen Klinik zu Wien hervorheben aus dem Jahre 1904/05, die eine ganze Reihe interessanter Befunde und Bestätigungen der Wernerschen Ergebnisse bringen. So konnte Thaler bei Radiumbestrahlung des Hodens eine Degeneration der samenbildenden Epithelien beobachten, während die viel stabileren Sertolischen Zellen intakt blieben. Hoffmann sah nach Cholininjektionen ähnlich wie bei Radiumwirkung und Röntgenbestrahlung eine schwere Degeneration der Hodenepithelzellen. Sehr wichtig ist auch die Tatsache, daß Hoffmann durch Cholininjektionen eine schwere Schädigung der Milzpulpa und nachfolgenden Schwund der Milzfollikel hervorrufen konnte. Exner und Zdarek stellten ebenfalls Hodenversuche an mit ähnlichem Resultat wie Hoffmann, während sich die Versuche von Exner und Sywek auf die Wirkung des Cholins auf Tumoren beziehen und zu dem Resultat führen, daß bei inoperablen Tumoren peritoneale Injektionen von Cholin nekrotisierend auf die Geschwulstzellen wirken. Dieselben Autoren stellten weiterhin fest, daß die intraperitoneale Injektion von Cholin nicht nur lokal wirkt, sondern eine elektive Fernwirkung auf die lymphoiden Organe besitzt.

Werners Versuche bezogen sich sowohl auf die Wirkung des Cholins auf das Blut wie auf die Geschlechtsdrüsen und auf die Beeinflussung der Geschwulstzellen. Über die von Werner und v. Lichtenberg angestellten Experimente bezüglich der Wirkung des Cholins auf die weißen Blutkörperchen wollen wir später im Zusammenhang mit den von Szécsi gemachten Feststellungen sprechen. Was nun die Wirkung des Cholins auf die weiblichen Geschlechtsdrüsen anlangt, so konnte Werner durch regelmäßige, wöchentlich 1—2 mal wiederholte Injektionen von 20 ccm einer 5%igen wässerigen Cholinlösung weibliche Kaninchen, die vorher regelmäßig geworfen hatten, monatelang steril erhalten. Bei Herabsetzung der Dosis wurden zwar Würfe erzielt, doch zeigten die Embryonen Verkümmerungen und Mißbildungen sowie auch Starbildungen an den Augen, ähnlich wie sie nach den Beobachtungen von Hippel und Pagenstecher nach Röntgenbestrahlungen auftreten. Während z. B. die Sterilität der weiblichen Kaninchen nach Schenck unter Umständen auch durch die Verletzungen und Beunruhigung der Tiere durch die Injektionen erklärt werden könnte, sind die Mißbildungen und Entwicklungsstörungen der Embryonen zweifelsohne auf eine primär toxische Schädigung durch das Cholin zurück-

zuführen. Auch bei männlichen Kaninchen gelang es durch Cholineinspritzung Sterilität zu erzielen, doch sind hierzu Dosen nötig, die von den Tieren schwer ertragen werden. Insbesondere sind die Versuche mit dem basischen Cholin deshalb schwer durchzuführen, weil bei Anwendung so großer Quantitäten schon verhältnismäßig geringe Beimengungen giftiger Zersetzungsprodukte, insbesondere von Trimethylamin, oder die Umsetzung eines Teiles des Cholins in Neurin gefährlich werden.

In der Zeit von November 1906 bis Dezember 1907 wurden im ganzen 10 männliche Kaninchen mit Hilfe von subkutanen Cholininjektionen (3—4 mal wöchentlich je 20 ccm der 5 % igen wässerigen Lösung) behandelt. Bei 5 Tieren war durch einseitige Kastration ein Testobjekt für die histologische Untersuchung geschaffen worden, bei den andern 5 Tieren wurde darauf verzichtet, um dem Einwand zu begegnen, daß eventuell die einseitige Kastration die Empfindlichkeit des andern Hodens gegen Cholininjektionen steigern könnte. Von diesen Tieren gingen 7 nach 3—5 wöchentlicher Behandlung zugrunde. Als Todesursache wurde eine Neurinvergiftung gefunden, und es konnte nachgewiesen werden, daß die zuletzt injizierte Cholinlösung teilweise in Neurin übergegangen war. An den Hoden fand sich mikroskopisch eine deutliche Verminderung der Spermatozoen, wobei von den erhalten gebliebenen überdies viele verkümmert waren. Ferner waren die Epithelien herdweise degeneriert, aber immerhin der größte Teil der Hodensubstanz noch gut erhalten. Bei einem Tiere, das nach etwa achtwöchentlicher Behandlung absichtlich getötet wurde, fanden sich dagegen schwere Degenerationserscheinungen an den Hodenepithelien unter Erhaltung der Stützsubstanz, ferner eine fast völlige Aspermie. Bei den beiden übrigen Tieren, die während der ersten 4 Wochen mit den erwähnten Dosen, später jedoch mit Rücksicht auf die bei den anderen Tieren gemachten Erfahrungen nur mit 5—10 ccm der 5 % igen Lösung gespritzt worden waren, war das Bild wiederum weniger charakteristisch, als bei dem zuletzt erwähnten Tiere.

Rasch und leicht gelang das Experiment, wenn man nicht am Orte der Wahl einspritzte, sondern die Testes direkt mit Cholin infiltrierte. Auch hierbei wurden die Stützsubstanzen nicht angegriffen, hingegen die Geschlechtszellen elektiv zerstört.

Die Ähnlichkeit der Cholinwirkung mit dem Effekte der Radium- und Röntgenstrahlen legte den Gedanken nahe, diese merk-

würdige Eigenschaft auch für therapeutische Zwecke auszunutzen. Daher wurden sowohl bei menschlichen, wie bei tierischen Geschwülsten einige diesbezügliche Versuche angestellt. In 3 Serien wurden im Jahre 1907 je 5 Mäuse mit durchschnittlich etwa walnußgroßen Tumoren mit 2%iger basischer Cholinlösung gespritzt, 10 von denselben paratumoral, 5 intratumoral. Nach den intratumoralen Injektionen zeigte sich zunächst in den ersten Tagen eine Quellung der Tumoren, die sich anfangs sichtlich vergrößerten, nach ungefähr einer Woche still zu stehen schienen und sich dann unter Erweichung verkleinerten. Zwei von den Tumoren verschwanden nach 6 resp. 8 Injektionen in Intervallen von 3—4 Tagen, wobei pro dosi 0,2—0,3 der Cholinlösung gegeben wurden, vollständig. Die andern 3 Tumoren exulzerierten und stießen sich als Sequester ab. Bei den paratumoral mit der gleichen Dosierung gespritzten Tieren mußten die Injektionen öfter wiederholt, also der Versuch länger fortgesetzt werden. 8 von den Tieren starben in der zweiten bis fünften Woche. Bei allen hatten sich Rückbildungserscheinungen an den Tumoren gezeigt, bei einem, das am längsten gelebt hatte, war der Tumor bis auf einen ganz winzigen Rest (hirsekorngroßes Knötchen) verschwunden. Um dieselbe Zeit waren auch bei den zwei übrigen Tieren die Geschwülste vollkommen zurückgebildet. Allein auch diese beiden Mäuse starben in der sechsten Woche, d. h. kaum 14 Tage nach dem Aussetzen der Behandlung und acht Tage, nachdem die Geschwülste verschwunden waren. Es war somit ein deutlicher Einfluß auf das Mäusekarzinom bewiesen, aber auch gefunden worden, daß die Tiere die Rückbildung der Geschwülste schlecht vertragen. Daher wurde seinerzeit von einer Publikation der Versuche abgesehen.

Beim Menschen wurden in erster Linie Karzinome und Sarkome, ferner auch Lymphome verschiedener Art mit Injektionen von Cholinum basicum in $^1/_2$-, 2-, 5-, 10- und 50%iger wässeriger Lösung behandelt. Die Injektionen wurden teils intratumoral, teils paratumoral, teils am Orte der Wahl vorgenommen. Die maximale Dosis für die einzelne Einspritzung bestand in 2 g der reinen Substanz, d. h. es wurden von der 50%igen Lösung höchstens 4 g, von der 10%igen 20 g, von der 5%igen 40 g und von der 2%igen 100 g injiziert. Über diese Dose hinauszugehen erschien nicht rätlich, da hierbei bereits leichte Intoxikationserscheinungen: Speichelfluß, etwas Schwindel und Schwächegefühl, Herzklopfen, ev. sogar auch Übelkeit auftraten. Auch aus einem anderen Grunde war es

kontraindiziert, eine größere Menge auf einmal einzuspritzen. Die Abspaltung von Trimethylamin oder der Übergang in Neurin, der insbesondere bei längerer Aufbewahrung des Cholins leicht in Erscheinung tritt, lassen die Möglichkeit einer schweren, ja unter Umständen bedrohlichen Intoxikation zu eminent erscheinen, als daß man wagen dürfte, mit dieser labilen Substanz über die erwähnte Dose hinauszugehen. Trotz aller Vorsicht traten bei 2 Patienten schwere Vergiftungserscheinungen ein, die in profuser Diarrhoe, Erbrechen, Schweißausbruch, Prostration, Herzschwäche und heftigen Schmerzen im Unterleibe bestanden. Wenn auch diese Erscheinungen nach mehreren Stunden vorübergingen, so waren sie doch so beängstigend, daß sie zu größter Vorsicht bei der therapeutischen Verwendung mahnten und Werner veranlaßten, nach Ersatzmitteln des Cholinum basicum zu suchen.

Die Veränderungen an den Geschwülsten waren insbesondere bei intra- und paratumoralen Injektionen jenen, die nach Strahlenwirkung eintreten, außerordentlich ähnlich. Wie bei diesen ließen sich drei verschiedene Arten der Reaktion unterscheiden, die mehr von der Beschaffenheit der Tumoren, als von der Einspritzung abhingen. Man sah Schrumpfungen und Indurationen von Geschwulstknoten, oder Erweichung derselben unter Austritt einer trüben, serösen Flüssigkeit, mitunter auch einer milchigen oder schokoladefarbigen Masse, endlich Nekrosen, die meist jenen eigenartigen speckigen Glanz an der Oberfläche zeigten und sich schwer abstießen, wie dies für die intensivsten Strahlenwirkungen charakteristisch ist. Nur die letzte Art der Reaktion konnte durch entsprechende Dosierung mit einiger Wahrscheinlichkeit vermieden werden, wenn man nämlich auf die rasche Einführung größerer Cholinmengen verzichtete und sich auf mittlere Dosen (von 0,5—1 g pro die) beschränkte. Ob eine Verflüssigung oder eine Schrumpfung zustande kam, war (ebenso wie bei der äußeren Bestrahlung oder bei der Einspritzung radioaktiver Substanzen) nur von der Eigenart des Tumors abhängig.

Bei der histologischen Untersuchung zeigten sich Degenerationen der Zellkerne mit Vakuolisierung oder Pyknose der letzteren, Schwund der Zellgrenzen unter scholligem Zerfall des Protoplasmas, ferner eine leukocytäre Infiltration der Randzone des reagierenden Gebietes, während in diesem selbst nur Leukocytentrümmer vorhanden waren. Der speckigen Nekrose entsprach eine vollkommen homogene, nur von einzelnen Kerntrümmern unterbrochene Gerinnungszone, deren

Randpartien von degenerierten Zellen eingesäumt wurden, an die sich ein Leukocytenwall anschloß, innerhalb dessen sich eine starke kapilläre Hyperämie zeigte.

Wie bei den Strahlenwirkungen, so beobachteten wir auch hier, daß in der Regel nur ein bestimmter Teil des Tumors stark reagierte und durch den Einfluß der Cholininjektionen entweder nekrotisiert oder zur Resorption gebracht wurde, während andere Teile des Tumors erhalten blieben und sich als äußerst resistent erwiesen. Jene Dosen, welche notwendig gewesen wären, um auch diese Geschwulstreste zu beeinflussen, lagen jedenfalls oberhalb der Grenze, die man aus den früher erwähnten Gründen einhalten mußte. Bei einigen großen und außergewöhnlich stark reagierenden Sarkomen kam es zu einer rapiden Verflüssigung und durch Resorption zu sepsisähnlichen Zuständen, wie dies ja auch bei allzu intensivem Zerfalle nach Röntgenbestrahlungen beschrieben ist, so daß auch hier eine obere Grenze für unser therapeutisches Wagen gezogen war.

Die Injektionen am Orte der Wahl wurden mit den schwachen $^1/_2$—1 %igen Cholinlösungen vorgenommen, von denen in Form von subkutanen Infusionen in den Oberschenkel täglich oder an jedem zweiten Tage 200—250 ccm eingeführt wurden. Die lokale Wirkung bestand nur in einem geringen Ödem und einer mäßigen Schmerzhaftigkeit, die besonders dann fast ganz fehlte, wenn die Cholinlösung durch einen entsprechenden Zusatz von Kochsalz isotonisch gemacht wurde. Der Einfluß auf die Geschwülste war unter diesen Bedingungen viel geringer; er trat erst nach 2—3 wöchentlicher Behandlung auf und bestand fast ausschließlich in Schrumpfungserscheinungen, niemals in deutlicher Verflüssigung oder Nekrose der Tumoren. Eigentlich wäre die Form der Reaktion eine günstigere gewesen, als bei direkter Applikation in die Geschwulst oder in die Nachbarschaft derselben, aber sie wurde zu langsam erzielt und war mit verhältnismäßig zu viel Intoxikationsgefahr verbunden, wenn man mit der Dose entsprechend steigen wollte, als daß diese Methode sich zu einer rationellen Therapie hätte ausbilden lassen. Ein Phänomen war jedoch sehr auffällig: die Haut des Körpers wurde im Laufe der Wochen gegen Strahleneinwirkungen überempfindlich, so zwar, daß die Erythemdosis ungefähr auf die Hälfte herabsank. Aus diesem Grunde war das Verfahren auch nicht zur Sensibilisierung innerer Tumoren gegen die Strahlenwirkung geeignet, da man die letztere nach den Cholineinspritzungen an Intensität vermindern mußte, um die Haut zu schonen, so daß im ganzen doch

nicht mehr Erfolg erzielt wurde, als bei der einfachen Strahlenbehandlung.

Intravenöse Injektionen erwiesen sich im Tierversuche als zu gefährlich, da schon die kleinsten Beimengungen von Trimethylamin oder Neurin bedrohliche Erscheinungen hervorriefen; sie wurden daher am Menschen nicht ausgeführt.

Bis Ende 1907 waren im ganzen 74 Patienten mit Cholinum basicum behandelt worden, teils mit, teils ohne gleichzeitige Bestrahlung. Es waren durchweg vorgeschrittene Fälle, bei denen weder auf chirurgischem Wege noch durch sonst ein Verfahren Hoffnung auf Erfolg bestand. Auch die Cholinbehandlung konnte das unerbittliche Schicksal der Kranken nicht aufhalten, allein es zeigten sich in mehr als der Hälfte der Fälle (bei 43 Patienten) deutliche, wenn auch nur vorübergehende Besserungen, die in einem partiellen Rückgange der Tumoren und in einer hierdurch bedingten Verminderung der Beschwerden bestanden. Bei 9 Patienten allerdings kam es, wie dies ja auch bei insuffizienter Strahlenbehandlung zu beobachten ist, zu vermehrtem Wachstume, bei 8 anderen wurden die bereits erwähnten stürmischen Zerfallserscheinungen Quelle einer Verschlechterung des Gesamtbefindens, die den erzielten lokalen Erfolg aufwog. 14 konnten wegen zu kurzer Dauer der Behandlung nicht beeinflußt werden. Die therapeutischen Versuche wurden, obwohl sie nicht absolut entmutigend ausgefallen waren, aufgegeben, um erst einen zuverlässigen Ersatz für das Cholinum basicum zu suchen.

Der nächste Gedanke war der, die voraussichtlich stabileren Salze des Cholins zu prüfen. Die ersten Experimente machte Werner mit dem käuflichen Cholinum hydrochloricum. Dieses erwies sich in wässeriger Lösung als haltbar und hatte keine unangenehmen Nebenwirkungen, aber es war erheblich weniger wirksam als die Base und insbesondere in den schwächeren, schmerzlos zu applizierenden Konzentrationen (1 – 2 $^0/_0$) praktisch fast ohne Effekt, so daß man vermuten konnte, die Wirkung des Cholins hänge mit dem Grade der Alkalinität zusammen. Deshalb suchte Werner festzustellen, inwieweit andere Alkalien für diese Zwecke verwendbar wären. In erster Linie wurden Lösungen von Ammoniak, Kali- und Natronlauge in verschiedenen Konzentrationen bezüglich ihres Einflusses auf das Mäusekarzinom studiert, und es zeigte sich, daß der Grad der Alkalinität bei der Kali- und Natronlauge zweifelsohne einen entscheidenden Einfluß besitzt. Die Wirkung des Ammoniaks war jedoch sehr erheblich von jener der beiden anderen

Alkalien verschieden und zeichnete sich vor allem dadurch aus, daß der Effekt kein streng lokaler blieb, sondern sich über weite Gebiete des Tumors erstreckte. Wurde z. B. 1 ccm der 1‰ Lösung von Kali- oder Natronlauge intratumoral injiziert, so erhielt man einen kleinen, hellgrau gefärbten Ätzschorf und die Nachbarschaft wurde im Umfange von 1—1½ cm ödematös und erweicht. Es kam nur zu einer unbedeutenden Schrumpfung der Geschwulst, deren Weiterwachsen durch die Einspritzung nicht verhindert, sondern eher noch beschleunigt wurde. Injiziert man 1 ccm 1‰ Ammoniaklösung, so begann am 2.—3. Tage das Tumorgewebe in beträchtlichem Umkreise zu erweichen und dann kam es entweder zu einer Verflüssigung, die bei mehreren Geschwülsten von nicht mehr als 5—6 ccm Volumen zu einer vollständigen Einschmelzung führte, oder die Kolliquation machte nach einigen Tagen halt und es trat eine Verhärtung ein, welche sich mikroskopisch als eine komplette, fast homogene Nekrose der Zellen erwies. War die Geschwulst ganz oder in großer Ausdehnung verflüssigt, so wurde die Haut an einer Stelle durchbrochen, es entleerte sich eine trübseröse Flüssigkeit, so daß nur ein flacher Cystensack zurückblieb, sodann pflegte die Haut zu nekrotisieren, es entstand ein bis tief in die Muskulatur hineinreichendes, braunes, mit Borken bedecktes Geschwür, das langsam ausheilte. Meist starben die Mäuse an einer Infektion desselben. Kam es jedoch zu einer Nekrose, so blieb in der Regel diese sehr hartnäckig sitzen und war ebenfalls der Infektion leicht ausgesetzt. Nur in einzelnen Fällen kam es zur Abstoßung und zu einer Geschwürsbildung, die ausheilte. Noch größere Differenzen zugunsten des Ammoniaks ergaben sich bei der Einspritzung 1%-iger Lösungen der drei erwähnten Alkalien. Hierdurch war der Beweis geliefert, daß dem Ammoniak eine besondere intensive Wirkung auf den Mäusekrebs zukommt, die in gewissem Grade von der Alkalinität unabhängig ist.

Diese Tatsache konnte auch noch durch folgende Experimente erhärtet werden.

Es wurde geprüft, welche Eigenschaften das Ammoniak als neutrales Salz besitzt. Zu diesem Zwecke wurde Ammonium chloratum in 1%iger Lösung benützt. Bei intratumoraler Injektion von 1 ccm bildeten sich nach einer Woche multiple kleine Erweichungsherde, während der Tumor um ein Drittel schrumpfte. Wiederholungen des Versuches hatten den gleichen Erfolg. Wurde dagegen die Salzlösung alkalisiert, wozu eine Mischung von 10 Teilen

10%iger Ammoniaklösung auf 20 Teile Ammonium chloratum und 1000 Teile Wasser verwendet wurde, so war das Resultat der Injektion ein ganz anderes. Die Tumoren gingen entweder rasch unter Verflüssigung zugrunde oder schrumpften und wandelten sich in wachsartige Nekrosen um. Aus diesen Beobachtungen geht direkt hervor, daß die Ammoniakwirkung weder auf dem Gehalte an Hydroxylionen noch allein auf der Anwesenheit von NH_3 beruhen kann, sondern einen kombinierten Effekt beider darstellt. Wahrscheinlich erleichtert das NH_3 als Lipoidlösungsmittel der Hydroxylgruppe den Eintritt in die Zellen, ein Vorteil, den weder Kali- noch Natronlauge besitzen.

Das basische Cholin hatte nun eine ganz ähnliche Wirkung wie die Ammoniaklösung, während das salzsaure fast vollkommen versagte. Aber zwei Unterschiede ergaben sich zwischen Wirkung des Cholins und jener des Ammoniaks. Letzteres wirkte viel stürmischer mit kürzerer Latenzzeit und nur bei intratumoraler Injektion. Das Cholin dagegen hatte eine mildere Wirkung, die erst nach einer Latenzzeit von 6—8 Tagen deutlich in Erscheinung trat, dafür aber auch bei paratumoraler Injektion. Werner hat noch eine ganze Reihe von anderen Ammoniakverbindungen geprüft und fand bei ihnen entweder keine, oder eine ähnliche Wirkung, wie sie für das reine Ammoniak charakteristisch ist, d. h. keine eigentliche Fernwirkung, die nur beim Cholin konstatiert werden konnte.

Dies ist wohl so zu erklären, daß das Cholin im menschlichen und tierischen Körper erhalten bleibt und im Blute wie im Lymphstrome einige Zeit hindurch unverändert zirkulieren kann, während die anderen Ammoniakverbindungen gleich der freien Base verändert werden. Mit Rücksicht auf diese Erkenntnis gab Werner die Versuche, andere Ammoniakpräparate als Ersatz für das Cholin zu suchen, zunächst auf und bemühte sich wieder, das Cholin selbst in stabilerer und doch wirksamer Verbindung zu erhalten. Durch die Vermittelung unseres Chefs, Exz. Czerny, dem wir hierfür unseren verbindlichsten Dank aussprechen möchten, konnten wir mit den Vereinigten chemischen Werken in Charlottenburg in Verbindung treten und erhielten von diesen eine Reihe von Salzen des Cholins, die der Chemiker Herr Dr. Lüdecke nach unseren Wünschen dargestellt hatte.

Über die ersten Versuche mit diesen Salzen hat Werner in Gemeinschaft mit Ascher in der Strahlentherapie (Bd. 1, H. 4) kurz berichtet. Wir wollen die an jener Stelle veröffentlichten Er-

gebnisse hier der Vollständigkeit halber noch einmal kurz resümieren.

Da die früheren Versuche Werners ergeben hatten, daß die Verbindungen des Cholins mit einer starken Säure, wie z. B. Salzsäure, wenig wirksam sind, lag es nahe, den Versuch mit Salzen aus schwächeren Säuren zu machen. Von vornherein waren zwei Momente zu beachten: der Grad, in dem die von den früheren Experimenten her bekannte reine Cholinwirkung erhalten blieb und die Eigenwirkung der Säuren selbst. Die ersten Versuche wollten zunächst nur die Möglichkeit der chemischen Imitation der Strahlenwirkung mit den neuen Cholinverbindungen feststellen.

Als Testobjekt wurde einerseits der Einfluß auf das Blut bei Menschen und bei Tieren (Kaninchen und Ratten), dann die Veränderungen am Hoden der Ratte, sowie an Rattensarkomen und Mäusekarzinomen gewählt. Die hämatologischen Untersuchungen wurden von Szécsi, die anderen Experimente zunächst von Werner und Ascher vorgenommen.

Wie bereits erwähnt, konnten Werner und v. Lichtenberg schon im Jahre 1906 für das basische Cholin bezüglich der Schwankungen in der Gesamtzahl der Leukocyten eine vollkommene Parallele mit der Röntgenwirkung feststellen. Dieselben Veränderungen hinsichtlich der Gesamtzahl der Leukocyten konnte Szécsi für das borsaure, jodbenzoesaure und Glykocholl-Cholin konstatieren und fügte außerdem eine genauere Analyse des qualitativen Leukocytenbildes hinzu. Es ergab sich bei diesen Untersuchungen folgendes:

Je nach der Art der angewandten Cholinsalze tritt im Blut kurze Zeit, und zwar durchschnittlich in der zweiten Stunde nach der Einspritzung, eine starke Verminderung der Gesamtleukocytenzahl auf, in der dritten bis vierten Stunde zeigt die Gesamtleukocytenzahl eine kleine Steigerung, um dann in der fünften bis sechsten Stunde den tiefsten Abfall zu erreichen. Diese in der fünften bis sechsten Stunde nach der Einspritzung eintretende generelle Hypoleukocytose ist je nach der Art und nach dem Grade der Beeinflussung von kürzerer oder längerer Dauer. Dieses Schwanken der Gesamtleukocytenzahl konnten im Jahre 1906 Werner und von Lichtenberg zuerst konstatieren. Sie verglichen damals ihre Resultate mit denen von Helber und Linser, die diese letzteren bei röntgenbestrahlten, vorher normalen Kaninchen erhoben haben. Werner und v. Lichtenberg resümieren die Analogien zwischen ihren Versuchen und denen von Helber und Linser folgendermaßen:

„1. Es kommt nach einmaliger Injektion zu einem sehr beträchtlichen Absinken der Leukocytenzahl, worauf bald wieder ein Anstieg folgt. Der Einfluß unserer Cholindosen entspricht dabei dem einer mehrere Tage langen, d. h. einer an mehreren Tagen hintereinander bis zur Erythemdosis an jeder Hautstelle fortgesetzten Röntgenbestrahlung. Da in unserem Falle das wirksame Agens dem Tiere infolge der raschen Resorption in sehr kurzer Zeit beigebracht wird, erscheint es nicht wunderbar, daß die Prozesse sich außerordentlich schnell abspielen.

2. Bei wiederholter Applikation des Cholins, welche den langen, oft wiederholten Bestrahlungen bei Helber und Linser analog zu setzen ist, ist die vermehrte Tendenz zur Hyperleukocytose nach dem Abfalle besonders hervorzuheben, die von den genannten Autoren als Ausdruck einer erworbenen, relativen Immunität betrachtet wurde, ferner die Neigung zu rhythmischen, großen Schwankungen der Leukocytenzahl.

3. Die Kaninchen erweisen sich in bezug auf die Beeinflußbarkeit der Leukocytenzahl gegen Cholin als ebenso individuell verschieden refraktär wie gegen die Röntgenstrahlen.

4. Es lassen sich nach Cholininjektionen an den weißen Blutkörperchen ähnliche Zeichen schwerer Schädigung und des Zerfalles konstatieren, wie Helber und Linser dies nach Röntgenbestrahlung beschrieben haben.

5. Die starke Herabsetzung der Leukocytenzahl durch Cholin wurde trotz der hohen Dosen dieser Substanz ebensogut vertragen wie die Leukopenie nach nicht zu sehr forcierter Röntgenbestrahlung."

Einen weiteren Beitrag zu dieser Frage liefert die Publikation von Benjamin, v. Reuß, Sluka und Schwarz über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf das Blut. Diese Autoren untersuchten die Veränderungen des Blutes nach Röntgenbestrahlung und stellten fest, daß die Röntgenbestrahlung im Blute charakteristische Veränderungen hervorruft, welche in einer vorübergehenden allgemeinen Leukopenie einer nachfolgenden Hyperleukocytose und Lymphopenie besteht. Benjamin und seine Mitarbeiter fassen die Resultate ihrer Versuche dahin zusammen, daß nach intensiver Röntgenbestrahlung im Organismus Cholin entsteht, wobei es bemerkenswert ist, daß das Auftreten dieses Körpers im Blute mit dem Auftreten der Hyperleukocytose zeitlich zusammenfällt. Dabei bemerken aber Verfasser, daß sie das Cholin keineswegs mit dem von Linser und

Helber angenommenen Leukotoxin für identisch halten. In einer Besprechung der Arbeit von Benjamin und v. Reuß über die Röntgenbestrahlung und Stoffwechsel sagt Pappenheim folgendes: „Benjamin und v. Reuß scheinen jetzt hier anzunehmen, daß das in dem bestrahlten Blut durch den Zerfall des Lecithins freiwerdende Cholin die Fernwirkung der Röntgenstrahlen vom Ohr bis zur Geschlechtsdrüse vermittelt und in der Geschlechtsdrüse (nach Werner-v. Lichtenberg und Exner-Sywek) die atrophischen Verwüstungen auslöst. Diese Ansicht auf die Röntgentherapie der Leukämie übertragen bedeutet, daß nicht durch Blutbestrahlung aus den leukolysierten Leukocyten freiwerdende Leukoendotoxine die tumorösen hämatopoetischen Organe zur Atrophie nach Heineke bringen (Gausch-Curschmann), sondern daß bei der Blutbestrahlung Lecithin (vielleicht aus dem Serum oder den Leukocyten) zersetzt wird und daß dessen Cholin sowohl die Leukocyten des Blutes wie der hyperplastisch leukoblastischen (leukohyperplastischen) Organe zur Leukolyse bringt.“ Wir schließen uns dieser Auffassung von Pappenheim an und erklären auch die röntgenähnliche Wirkung des Cholins auf das Blut im Sinne der eben zitierten Ansicht Pappenheims.

Bezüglich der Röntgenwirkung auf das Blut gab und gibt es heute noch verschiedene Theorien und Erklärungsversuche, die aber bis jetzt noch unentschieden sind. Gausch und Curschmann behaupten, daß die Röntgenstrahlen nicht direkt leukolytisch wirken, sondern indirekt, indem sie im Blute Stoffe (Leukonukleine, Leukoendotoxine) bilden, die dann als leukotoxische Leukolysine auf die Blutkörperchen und die blutkörperchenbildenden Organe wirken. Benjamin, Werner und Exner bezeichnen die Röntgenwirkung auch als eine wenigstens zum Teil indirekte, nur nehmen sie an, daß nicht die Leukonukleine bzw. die leukotoxischen Leukolysine die spezifische Wirkung auslösen, sondern das Cholin, welches aus dem Lecithin unter der Einwirkung der Röntgenstrahlen in vivo wie in vitro entsteht. Im Gegensatz zu diesen nehmen Heineke und Arneth an, daß die Röntgenstrahlen nicht indirekt, sondern direkt karyolytisch-leukolytisch wirken. Werner ist der Meinung, daß sowohl indirekte wie direkte Wirkungen nebeineinander vorkommen und sich summieren können.

Als für unsere Ergebnisse wichtige Versuche möchten wir aus der großen Anzahl der Arbeiten nur auf diejenige von Krause und Ziegler sowie Heineke und die schon zitierten Arbeiten von

Benjamin hinweisen. Aus all diesen Versuchen können wir folgendes schließen:

Die Röntgenstrahlen zerstören durch ihre karyolysierende Kraft in erster Linie die aktiv proliferierenden Zellkerne, in zweiter Linie die ruhenden Kerne der jungen, atypischen, unreifen germinativen Bildungszellen (Großlymphocyten und Leukoblasten); resistenter als die atypischen jugendlichen Vorstufen sind die ergastischen reifen Blutzellen, d. h. Lymphocyten, Monocyten und polynukleäre Leukocyten. Aber auch diese normalen reifen typischen Blutzellen erweisen sich in bezug auf ihre Resistenz gegen Röntgenstrahlen nicht als gleichmäßig und gleichwertig. Eben die Versuche aus letzterer Zeit über die Einwirkung von radioaktiven Substanzen auf das Blut und die blutbildenden Organe zeigten eine Differenz zwischen den einzelnen reifen Blutzellen. Wir erinnern nur an die Feststellungen von Pappenheim, der die Wirkung des Thorium x auf das Blut untersuchte und in einem vor kurzem gehaltenen Vortrag darauf hinwies, daß nach intravenöser Thorium x-Einspritzung wie bei den Röntgenstrahlen zuerst die Lymphocyten und Monocyten aus dem Blute verschwinden, während die polynukleären Spezialzellen sich am resistentesten erweisen.

(In bezug auf den heute noch unentschiedenen Streit in der Hämatologie zwischen Dualismus und Unitarismus ist die Deutung dieses Unterschiedes in der Resistenz der einzelnen Leukocytenarten eine recht interessante. Vom dualistischen Gesichtspunkte aus könnte man sagen, daß dieser Unterschied ein direkter Beweis für die Differenz der lymphatischen und myeloischen Zellreihe sei; dem gegenüber kann man aus dem Standpunkte der extremen Unitarier sagen, daß die sog. lymphatischen Zellen, also Lymphocyten und Monocyten, gegen die Einwirkung radioaktiver Substanzen weniger resistent sind als die Granulocyten, weil sie eben nur unreife, zur Weiterentwicklung zum Granulocyten bestimmte Zellen sind. Wenn man, wie wir das tun, den gemäßigt monophyletischen Standpunkt Pappenheims vertritt, so kann dieser Unterschied keine Schwierigkeiten in bezug auf die Deutung bringen, da wir ja sowohl die sog. lymphatischen Zellen wie die Granulocyten als Abkömmlinge einer und derselben Stammzelle [Lymphoidocyt] betrachten, die sich nur unter einem spezifischen lymphoplastischen bzw. myeloplastischen Reiz zu lymphoiden Zellen oder zu Granulocyten entwickelt haben.)

Was nun unsere hämatologischen Befunde bei Cholinsalzinjek-

tionen anbelangt, so bringen diese zunächst eine Bestätigung der früheren Untersuchungen von Werner und v. Lichtenberg, indem wir dieselben Schwankungen der Gesamtleukocytenzahl nach Cholinsalzinjektionen (borsaures Cholin, jodbenzoesaures Cholin, Glykochollcholin) konstatieren konnten, wie das seinerzeit Werner und v. Lichtenberg nach Injektion von basischem Cholin festgestellt hatten. Außerdem ergänzen unsere Versuche die früheren Befunde insofern, daß wir eine verminderte Resistenz der lymphoiden Zellen, insbesondere der Lymphocyten, gegenüber den Cholininjektionen feststellen konnten. Es tritt nämlich 1 bis 2 Stunden nach der intravenösen Einspritzung eine Lymphopenie ein, die im Laufe der Behandlung unverändert bleibt; anders verhalten sich die Granulocyten, speziell die neutrophilgranulierten. Diese werden erst später zerstört, es tritt sogar wahrscheinlich durch Ausstoßung eine vorübergehende neutrophile Polynukleose ein. (In bezug auf dieses letztere ist bei Thorium x gerade das Umgekehrte der Fall [s. Papppenheim—Plesch]).

Auch diese unsere hämatologischen Befunde sind also ein weiterer Beweis für die Parallelität zwischen Röntgenstrahlen und Cholin in bezug auf ihre Wirkung auf die Körperzellen.

Als das wichtigste und nach den früheren Erfahrungen am schwierigsten zu erreichende Ziel wurde eine Nachahmung der radiogenen Veränderungen am Hoden versucht, wie sie aus den Experimenten von Albers-Schönberg, Frieben, Seldin, Buschke und Schmidt, Bergonie und Tribondeau, Regaut und Blanc, Villemin, Brown und Osgood, Philipp u. a. bekannt sind. Die Experimente wurden an weißen Ratten ausgeführt, deren Testikel bekanntlich besonders gut ausgebildete Epithelschläuche und Spermatozoen besitzen. Die Tiere wurden ein bis zweimal intravenös in die Schwanzvene, und weil dies nicht öfter und überhaupt nur unvollkommen gelang, später subkutan an von den Hoden möglichst weit entfernten Stellen des Rückens mit 2% Borcholinlösung injiziert. Die Tiere erhielten 2—4 mal wöchentlich je 2 ccm pro dosi. Bei einem Teile der Ratten war vorher eine einseitige Kastration vorgenommen worden, um den mikroskopischen Vergleich bei demselben Tiere vor und nach der Behandlung durchführen zu können, während bei den anderen Tieren darauf verzichtet wurde, um einen eventuell schädigenden Einfluß der Operation auszuschalten. Nach 3—6 wöchentlicher Behandlung wurden die Hoden exstirpiert, die Tunica vaginalis communis entfernt, das Organ in kleine Plätt-

chen zerschnitten, in Zenker fixiert und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Herr Dr. Schneider, I. Assistent am Pathologischen Institut in Heidelberg, hatte die Freundlichkeit, die Präparate genauer zu studieren, und kam dabei zu folgendem Ergebnisse:

Der Hoden ist ausgesprochen, ziemlich gleichartig diffus verändert; die Veränderung betrifft die Struktur der Hodenkanälchen und trägt degenerativen Charakter. Schon bei schwachen Vergrößerungen fällt das völlige Fehlen fertiger Spermien sowohl im Hoden wie im Nebenhoden auf. Das Epithel der Hodenkanälchen erscheint an Masse (Dicke) vermindert, aufgelockert, großenteils desquamiert, der Umfang der Einzelkanälchen sowie der Querschnitt des Gesamtorgans dadurch im Vergleich zur Norm vermindert.

Stellenweise sitzen nur noch 1—2 Zellagen der zarten Membrana propria, deren Zellelemente nicht verändert erscheinen, auf, an anderen Stellen erhebt sich auf diesem noch eine 3—4 Zellagen starker Schichte. Der wesentliche Teil der Zellelemente der Kanälchen liegt locker in einer fädig-homogenen Eiweißmasse eingebettet und zeigt ausgesprochene Zerfallserscheinungen; dies Material füllt mehr oder minder das Kanallumen aus.

Geht man von den basalen Zellen der Hodenkanälchen aus, so erscheinen die dunkelkernigen Spermatogonien an den besser erhaltenen Kanälchen in reichlicher Zahl; nicht selten zeigen sie zahlreiche Mitosen, die sich auch auf die nächste Schicht noch erstrecken und die Zahlen der Vergleichspräparate noch übertreffen. Dazwischen finden sich einzelne blaßkernige Sertolizellen, die in den Kanälchen mit wenigen Zellagen immer stärker prävalieren, ja es finden sich Hodenkanälchen, wo nur eine basale Lage fast allein aus Sertolischen Zellen nachweisbar ist. Die Spermatocyten und Präspermatiden mit ihren großen, stark gefärbten, charakteristisch strukturierten Kernen liegen nur in einer geringen Anzahl der Kanälchen dem basalen Zellenlager unmittelbar auf, vielfach haben sie sich abgelöst und beteiligen sich am Aufbau der inneren, lockeren, in Degeneration befindlichen Lagen, die aber im wesentlichen aus den Spermatiden und eventuell noch aus Rudimenten von Spermien bestehen.

Die Spermatiden zeigen fast alle mehr oder minder schwere Zerfallserscheinungen.

Als leichten Grad der Degeneration möchte ich das Auftreten

von Riesenzellen unter diesen desquamierten Elementen bezeichnen, sie zeigen bald 2, 4, 8 oder mehr Kerne, die sehr verschiedenen Charakter tragen, bald sind sie groß und dann nur zu 2 in der Zelle mit lockerem, scharfgezeichneten Chromatingerüst der Spermatocyten und Präspermatidenkerne, bald sind sie kleiner, heller gefärbt, wenig chromatinreich wie die Spermatidenkerne; gelegentlich beobachtet man auch intensiv gefärbten kleinen Spermien ähnliche Kerne, die manchmal wie Gonokokken paarweise im Zellprotoplasma angeordnet sind. Daraus scheint hervorzugehen, daß die Riesenzellenbildung so vor sich geht, daß die Protoplasmazergliederung der Zellteilung nicht nachfolgt, nicht etwa durch Konfluenz mehrerer Zellen.

Die Ursache dieser Störung scheint in den Schädigungen des Protoplasmas zu liegen, die sowohl in den Riesenzellen, wie in den einzelligen Elementen ersichtlich nachzuweisen sind; sie äußern sich einesteils als Vakuolisierung, Verwischung der Begrenzung und Zerfall zu Detritus, anderenteils als zunehmende Verdichtung mit starker Eosinophilie. Daneben finden sich dann aber auch starke Kerndegenerationen, teils alle Grade von pyknotischer Verdichtung und Karyorhexis, teils Aufhellung und Verquellung bis zur völligen Chromatolyse. Vielfach deuten nur noch rundliche erythrocytenähnliche Protoplasmamassen die Zellelemente an.

Zwischen den Hodenkanälchen sind nur verhältnismäßig wenig Zwischenzellen vorhanden, das Gefäßbindegewebe ist unverändert.

Am Nebenhoden zeigt der Zellbelag der Kanälchen keine Veränderung, im Lumen finden sich nur Detritusmassen.

Zusammenfassend stellt sich die Veränderung dar als eine Unterbrechung der Spermiogenese durch degenerative Schädigung der Samenbildungselemente. Betroffen sind vor allem die innersten Lagen der Bildungsschicht. Spermien fehlen völlig, Spermatiden zeigen starke Degeneration bis zu völligem Schwund. Bemerkenswert ist das Auftreten von Riesenzellen. Schrittweise nimmt die Veränderung gegen die Membrana propria zu ab, die Spermatogonien zeigen sogar manchenorts Zeichen gesteigerter Proliferation. Andernorts sind auch sie noch in die Schädigung einbezogen, und an ihrer Stelle erscheinen dann die Sertolischen Stützzellen vermehrt, doch ist die Vermehrung nicht imstande, die Atrophie der Kanälchen durch Degeneration des gesamten Samenbildungsapparats zu verdecken. Eine Zunahme der Zwischenzellen hat (noch) nicht stattgefunden.

Diese Veränderungen, die sich als eine mehr oder minder weitgehende Schädigung und Zerstörung der Samenbildungszellen darstellen, stimmen ausgezeichnet überein mit den von Herxheimer-Hoffmann beschriebenen, von Simmonds und Kyrle u. a. bestätigten und ergänzten Befunden bei Röntgenschädigung des Hodens und zwar mit den leichtern Graden dieser Veränderung.

Eine weitere Ähnlichkeit mit der Strahlenwirkung beweisen auch die Veränderungen, die wir nach Borcholin-Einspritzungen an der Haut beobachtet haben. Es zeigte sich nämlich, daß nach diesen Injektionen eine Dermatitis zustande kommt, die zu Haarausfall, Rötung, Blasenbildung und Epidermisnekrose führt, wobei die Latenzzeit je nach der Konzentration der Lösung und Dichte der Infiltration verschieden (1—9 Tage) ausfällt. Ganz lange Latenzzeiten von 2—3 Wochen mit nachfolgendem Erythem sind noch nicht sicher beobachtet, wohl aber solche mit nachfolgender Bräunung der Haut in der Umgebung der Injektionsstelle ohne sonstige Veränderung. Es entspricht dies der mildesten Röntgenreaktion.

Gestützt auf den Nachweis der Möglichkeit, die Strahlenwirkung auf den tierischen Körper durch Borcholin zu imitieren, wurden auch einige Heilversuche bei Tumortieren mit diesen Mitteln angestellt. Diese Experimente erstreckten sich zunächst auf 15 Ratten mit Sarkomen und 12 Mäuse mit Adenokarzinomen, von denen, wie bereits an anderer Stelle mitgeteilt wurde, 9 Mäuse und 2 Ratten mit großen Geschwülsten vollkommen geheilt wurden. Da die Art der Rückbildung, sowie der histologische Befund von unseren später gemachten Beobachtungen nicht wesentlich abweicht, so können die Einzelheiten dieser Anfangsversuche in Gemeinschaft mit unseren späteren Beobachtungen besprochen werden.

Untersucht wurden folgende Cholinverbindungen:

1. Das borsaure Cholin

$$(CH_3)_3 - N \begin{matrix} - CH_2 \cdot CH_2OH \\ - O - B \begin{matrix} - OH \\ - OH \end{matrix} \end{matrix}$$

Kaninchen vertrugen von der 2%igen Lösung dieses Salzes 5 ccm intravenös, subkutan entsprechend bedeutend mehr. Bei Menschen wurden bis zu 50 ccm 2%iger Lösung auf dem Blutwege vertragen, wobei keine anderen Erscheinungen als leichte Kongestionen und vorübergehende Schwindelgefühle beobachtet wurden. 20—30 ccm riefen meist überhaupt keine subjektiven Störungen hervor. Auch nach wiederholter Verabreichung wurde keine stärkere Reaktion

beobachtet, im allgemeinen wurde jedoch nicht über 3—5 g der reinen Substanz hinausgegangen, die innerhalb von etwa 2—3 Wochen mit Hilfe von 6—8 Injektionen verabreicht wurde. Irgend einen Einfluß auf die Niere, die Darm- oder Herztätigkeit konnte bei dieser Dosierung nicht konstatiert werden. Nach 3—4 wöchentlicher Pause wurden die Injektionen wiederholt, ohne daß irgend eine Änderung bezüglich der Empfindlichkeit bemerkt worden wäre. Einzelne Individuen, welche intravenöse Injektionen überhaupt schlecht vertragen und bei denen schon bei Kochsalzinfusionen stärkere Kongestionen, Schwindelgefühl, ja selbst Übelkeit auftritt, verhielten sich auch den Cholininjektionen gegenüber entsprechend ungünstiger, doch können die Erscheinungen wohl nicht der Toxizität des Cholins zugeschrieben werden, da auch indifferente Lösungen ähnliche Zustände hervorrufen können. Größere Dosen, insbesondere von unverdünnter 2 % iger Cholinlösung, bewirken Speichelfluß, Tränen der Augen und einen eigenartigen salzigen Geschmack auf der Zunge. Diese Phänomene werden bei erwachsenen Menschen in der Regel erst dann deutlich, wenn man über 10—15 ccm hinausgeht.

2. Das jodbenzoesaure Cholin

$$(CH_3)_3 - N \begin{matrix} - CH_2 \cdot CH_2OH \\ - O - O = \langle \quad \rangle J \end{matrix}$$

Die pharmakologische Prüfung in bezug auf Dosierung ergab dasselbe wie bei dem Borcholin, nur daß die Reizerscheinungen bei intravenösen Injektionen bei Menschen bei Dosen bis zu 1 g der Reinsubstanz fehlten.

3. Nur wenig toxischer als die eben erwähnten sind

a) das ameisensaure Cholin

$$(CH_3)_3 - N \begin{matrix} - CH_2 \cdot CH_2OH \\ - O - O = C - H \end{matrix}$$

b) das Glykochollcholin

$$(CH_3)_3 - N \begin{matrix} - CH_2 \cdot CH_2OH \\ - O - O = C \cdot CH_2 \cdot NH_2 \end{matrix}$$

c) das Atoxyl-Cholin

$$(CH_3)_3 - N \begin{matrix} - CH_2 \cdot CH_2OH \\ - O - As - \langle \quad \rangle NH_2 \end{matrix} \quad (OH - As,\ As = O)$$

Giftiger als die eben genannten Verbindungen sind

d) das nucleinsaure Cholin (unbekannter Konstitution)

e) das Jodatoxyl-Cholin

$$(CH_3)_3 - N \begin{matrix} - CH_2 \cdot CH_2OH \\ - O - \\ \end{matrix} \quad OH - \underset{\underset{O}{\|}}{As} - C_6H_3(J)NH_2$$

f) das salizylsaure Cholin

$$C_6H_4(OH) - COO - N \begin{matrix} \equiv (CH_3)_3 \\ - CH_2 \cdot CH_2OH \end{matrix}$$

g) das zimtsaure Cholin

$$C_6H_5 - CH = CH \cdot COO \cdot N \begin{matrix} (CH_3)_3 \\ - CH_2 \cdot CH_2OH \end{matrix}$$

h) eine Quecksilber-Cholinverbindung[1]) mit folgender Formel:

$$C_6H_3 \begin{matrix} N \begin{matrix} H \\ - OC \cdot CH_3 \end{matrix} \\ COO \cdot (CH_3)_3 - N \begin{matrix} - CH_2 \cdot CH_2OH \\ - OH \end{matrix} \\ Hg - Cl \end{matrix}$$

Das jodatoxylsaure Cholin wird von Kaninchen in 2 %iger Lösung intravenös bis zu 1 ccm vertragen, tötet dagegen die Tiere bei $1\,^1/_2$—2 ccm nach 4—6 Tagen und zwar durch eine parenchymatöse, oft hämorrhagische Nephritis. Bei Menschen riefen 0,4 der Reinsubstanz, also eine Dosis, die vom Kaninchen anstandslos vertragen wurde, schwere Intoxikationserscheinungen hervor. Diese bestanden in außerordentlich heftigen Schmerzen in der Leber- und Magengegend, Diarrhoe, Erbrechen und wochenlang anhaltendem Ikterus. Nephritis wurde hingegen keine konstatiert.

[1]) Mit diesem Präparat, sowie mit anderen organischen Hg-Verbindungen macht der eine von uns (Szécsi) chemotherapeutische Versuche bei Hühnerspirochätose. Die Ergebnisse dieser Versuche werden demnächst an dieser Stelle in extenso veröffentlicht.

4. Einige Präparate, wie

a) das Cholinum arsenicosum

$$(CH_3)_3 - N \begin{matrix} - CH_2 \cdot CH_2OH \\ - O - As = O, \end{matrix}$$

b) das Cholinum dijodkresolicum

$$(CH_3)_3 - N \begin{matrix} - CH_2 \cdot CH_2OH \\ - O \langle \quad \rangle J \end{matrix}$$

waren entweder allzu toxisch oder zu stark ätzend, um für Injektionen verwandt zu werden.[1])

Die chemische Imitation der Strahlenwirkung war hinsichtlich der Wirkung auf das Blut nur beim borsauren, jodbenzoesauren, atoxylsauren und Glykocholl-Cholin möglich. Die Hodenversuche wurden hauptsächlich mit dem borsauren Cholin gemacht.

Wie es aus unserer ersten vorläufigen Mitteilung in der „Medizinischen Klinik“ bereits bekannt ist, besteht unsere Methode darin, daß wir das Cholin in Verbindung von kolloidalen Schwermetallen angewandt haben. Es ist vielleicht hier angebracht, einiges über die therapeutische Anwendung der Kolloide zu sagen.

Die Kolloidchemie gewinnt immer mehr an Bedeutung für die ganze Biologie, Pathologie sowohl wie für die Therapie. Fritz Munk sagt folgendes über die therapeutische Anwendung der Kolloide: „Die absolute Vorherrschaft kolloider Substanzen im Organismus, insbesondere im Blutserum, macht es verständlich, daß alle in die Blutbahn aufgenommenen Stoffe in dieses disperse System nach den Gesetzen der Kolloidchemie eingeführt werden, bzw. nur unter ständigem Einhergehen von kolloiden Vorgängen ihre Wirkung entfalten können. Diese Tatsache muß bei allen chemotherapeutischen Bestrebungen in erster Linie berücksichtigt werden.“ Es waren besonders die Franzosen (Joltrain, Daniel, Tremolières, Iscovesco und viele andere), die eine therapeutische Anwendung der Kolloide erstrebten. Auf die Tumoren haben die kolloidalen Metalle auch eine gewisse Wirkung, wie das aus den Versuchen von Neuberg und Caspari, sowie aus den Versuchen von französischen Autoren mit kolloidalem Selen zu ersehen ist. Neuberg und Caspari und auch wir sind der Meinung, daß durch die kolloidalen

---

[1]) Außer diesen Präparaten hatten wir noch eine ganze Reihe von Cholinsalzen geprüft, so z. B. das glyzerinphosphorsaure, das selensaure, brenzkatechinsaure, selenigsaure Cholin und viele andere. Diese alle erwiesen sich aber als mehr oder minder unwirksam.

Metalle die Autolyse der Tumoren gefördert wird. Auch scheinen die neuesten Experimente von Jacques Loeb und von Warburg ein gewisses Licht auf diese Vorgänge zu werfen, die bei der Einwirkung von kolloidalen Metallen auf die Tumorzellen entstehen. Jacques Loeb und Warburg konnten nämlich zeigen, daß bei jungen, wachsenden Zellen (Seeigeleier) kleine Dosen von metallischen Salzen in kolloidaler Form den Sauerstoffverbrauch der betreffenden Zellen ganz besonders steigern. Läßt man aber diese metallischen Salze, wenn auch in kleineren Dosen, längere Zeit einwirken, so wird der Sauerstoffverbrauch in einem Maße gesteigert, daß diese jungen Zellen dadurch zugrunde gehen. Fritz Munk erklärt in einer Besprechung der Versuche von Neuberg und Caspari und unserer Versuche die elektive Wirkung der Metallsalze auf die jungen, schnellwachsenden Tumorzellen eben durch diesen gesteigerten Sauerstoffverbrauch.

Von den verschiedenen Kolloiden, die wir untersucht haben, ist das kolloidale Selen bereits von anderen Autoren untersucht worden, sowohl auf seine physiologischen Eigenschaften wie auf seine Wirkung auf die Tumoren. Das kolloidale Selen, das uns von der Firma Clin in Paris in liberalster Weise zur Verfügung gestellt worden ist, wird nach einem Verfahren von Rebière dargestellt und wurde von Duhamel auf seine physiologischen Wirkungen untersucht. Das Präparat wird aus dem amorphen roten Selen (Selen β genannt) hergestellt und zwar so, daß 200 g Selen auf ein Liter Wasser kommen.

Die erste Arbeit Duhamels beschäftigte sich mit der Toxizität des genannten Präparates. Duhamel injizierte Kaninchen 5—40 ccm Elektroselenium. Die Tiere zeigten gar keine Krankheitserscheinungen, während ein mit seleniger Säure behandeltes Kaninchen sehr bald erkrankte (Anorexie, Dyspnoe, Albuminurie) und nach 9 Tagen starb. Das kolloidale Selen ist also wenig giftig, besitzt aber wenig oder fast gar keine bakterizide Wirkung.

Mit Rebière zusammen untersuchte Duhamel den Harn der mit Elektroselenium behandelten Kaninchen und fand, daß ein Teil des Selens durch den Harn ausgeschieden wird. Quantität und Farbe des Urins zeigen keine wesentliche Änderung. Das spezifische Gewicht nimmt am Anfang der Behandlung zu und dann wieder allmählich ab. Die Menge des Harnstoffes steigt von 1,38 g auf 3,64 in der vierten Woche der Behandlung. Die Harnsäure, Phosphate und Chlorate nehmen auch zu. Die Menge des Harnstoffes und

der Phosphate wächst sogar noch eine Zeit nach Beendigung der Behandlung.

Die weiteren mit Juillard zusammen ausgeführten Untersuchungen Duhamels beziehen sich auf die Lokalisation des Selens in den einzelnen Organen. Es wurden zwei Kaninchen 5 Tage nach der letzten Einspritzung von Selen getötet. Es fand sich Selen hauptsächlich in der Leber, aber auch im Blut, in den Knochen, Lunge, Herz, Nebennieren und Geschlechtsorganen, wenn auch in den letzteren nur in geringem Grade. Es konnte keine Spur von Selen nachgewiesen werden in den Muskeln, Nieren, im Gehirn, Thymus und in der Milz. Duhamel und Rebière glauben deshalb, daß nur ein Teil des Selens durch den Harn ausgeschieden wird, während ein anderer Teil sich in einzelnen Organen aufstapelt und da ganz bestimmte histologische Veränderungen hervorruft.

In einer späteren Arbeit beschäftigt sich Duhamel mit den histologischen Veränderungen, die durch das Elektroselenium und durch selenige Säure hervorgerufen worden sind. Das Elektroselenium verursacht hauptsächlich Veränderungen in der Niere und in der Leber. Die Niere ist stellenweise kongestioniert, ihre Kapillaren sind erweitert. Die Leber ist vergrößert und enthält viel Bindegewebe. Alle anderen Organe zeigten keine Veränderungen. Bei seleniger Säure findet man schwere Veränderungen in den Nieren, in der Leber und auch in der Lunge.

Das Elektroselenium macht — wie Duhamel in seiner vorletzten Arbeit mitteilt — kurz nach der Einspritzung eine Leukopenie, bald nachher tritt aber eine Leukocytose ein. Wenn anfangs 7500 Leukocyten pro Kubikzentimeter gefunden wurden, stieg diese Zahl in der 5. Stunde nach der Einspritzung auf 15000. Was die Leukocytenformel anbelangt, konnte Duhamel nichts Charakteristisches feststellen.

In der letzten Arbeit schließlich berichtet Duhamel über die Nachwirkung des Elektroseleniums und kommt zu dem Schlusse, daß eine akute Vergiftung mit dem Elektroselenium keine schweren Folgen hat und daß sie keine wesentliche Schädigung der wichtigeren Organe hervorruft.

Außer diesen rein experimentellen Versuchen liegen auch schon klinische Erfahrungen über das kolloidale Selen vor. Einer der ersten, der das kolloidale Selen gegen Tumoren angewandt hat, war Bougeant, der aus seinen Versuchen folgendes schließt:

1. Das Elektroselenium Clin ist intravenös injiziert, in hohem

Grade unschädlich und kann wiederholt eingespritzt werden. Die Einspritzung ist schmerzlos und die nachfolgende individuell sehr variable Reaktion ziemlich unbedeutend.

2. Bei inoperablen, weit fortgeschrittenen Geschwülsten angewandt, konnte das Elektroselenium nach Bougeant gute lokale und allgemeine Wirkung erzielen. Letztere bestand in einer Besserung des allgemeinen Zustandes, der Körperkraft und des Appetits sowie der Schlaflosigkeit; der lokale Effekt war der, daß die Tumoren beweglich, trocken und kleiner wurden und daß ganz besonders die Schmerzen nachließen.

3. Der maximale therapeutische Erfolg tritt zwischen der 25. und 50. Injektion ein. Später scheint eine Gewöhnung an das Mittel einzutreten. Infolgedessen glaubt Bougeant, daß man statt der bisher von ihm angewandten kleineren Dosen höhere Dosen (bis zu 25 zu 50 ccm) anwenden und lieber zwischen den einzelnen Einspritzungen größere Pausen, etwa eine Woche, lassen soll.

4. Die Resultate, die Bougeant bei fortgeschrittenen inoperablen Karzinomen erzielen konnte, lassen ihn hoffen, daß man bei beginnenden Karzinomen noch viel bessere Resultate erhalten dürfte. Er glaubt, daß man das Elektroselenium vor der Operation anwenden sollte, um die Tumoren mobilisierbar zu machen und um den allgemeinen Zustand zu verbessern, ferner nach der Operation, um Rezidive und Metastasen zu verhindern. Diese Behandlungsweise empfiehlt er ganz besonders bei tiefer liegenden Tumoren und glaubt, daß das Elektroselenium in Verbindung mit den Röntgenstrahlen und radioaktiven Substanzen in der Kombinationstherapie der malignen Geschwülste eine hervorragende Rolle spielen wird.

Außer Bougeant waren es Thiroloix und Lancien, Netter und Gascuel, Girard und Cade, Blumenthal, Trinkler, die das Elektroselenium klinisch angewandt haben.

Über das kolloidale Kupfer sowie das Thiarsol (kolloidales As_2S_3) von Clin fehlen noch klinische und zum Teil auch experimentelle Erfahrungen. Hingegen erschien in der allerletzten Zeit eine Publikation von Gaube du Gers über ein von ihm angewandtes Mittel, Cuprase genannt, das aus einer kolloidalen Eiweißkupferverbindung besteht. Auch Gaube du Gers berichtet über günstige Beeinflussung der Tumoren durch sein Mittel.

Gleichzeitig mit unseren therapeutischen Versuchen durch die verschiedenen Cholinsalze stellte der eine von uns (Szécsi) Vitalfärbungsversuche an und versuchte dabei die angewandten Vitalfarben

mit Cholin in Verbindung zu bringen. Es stellte sich dabei heraus, daß die Tiere, die mit cholingelösten Vitalfarben gespritzt wurden, viel schneller und intensiver die gewünschte Farbe annahmen als die Tiere, die mit kochsalzgelösten Vitalfarben gespritzt wurden. Über diese Vitalfärbungsversuche, die mit den chemotherapeutischen Versuchen eigentlich nur in indirekter Beziehung zusammenhängen, wird Szécsi an anderer Stelle noch ausführlicher berichten. Hier soll nur aus den Ergebnissen dieser Versuche das Wichtigste hervorgehoben werden, nämlich, daß das Cholin eine sehr hohe Diffusionskraft besitzt und infolgedessen ein geeignetes Mittel ist, um als Transporteur zu wirken und Stoffe, die wir in bestimmte Zellen einführen wollen, schnell dorthin zu bringen. Es könnte also das Cholin im Sinne von Wassermann als Cytotrochin angesehen werden, wobei es noch die besondere Eigenschaft besitzt, selbst auf die Tumoren zu wirken; somit war für uns gegeben, Versuche anzustellen, durch dieses an und für sich wirksame Cholin spezifische tumoraffine Substanzen zu den Tumoren transportieren zu lassen.

Da aus dem früher Gesagten hervorgeht, daß bereits Beobachtungen vorlagen, die auf eine im gewissen Sinne elektive Wirkung einiger Metallkolloide zu schließen erlauben, wurde zunächst der Versuch gemacht, das kolloidale Selen, das schon Bougeant u. a. als wirksames Agens für die Tumoren erprobt haben, mit Cholin gemischt bei Geschwulsttieren zu injizieren. Außer mit Selen wurden auch Versuche mit Vanadium, Kupfer, Kobalt, Tellur, Eisen, Zinn, Zinkoxyd, Schwefel, Arsen und einigen anderen Metallen gemacht, die zu dem Ergebnisse führten, daß nur einige von diesen in Cholin gelösten Kolloiden (Selen, Kupfer, Kobalt, Eisen, Zinkoxyd, Schwefel, Arsen) bei isolierter Anwendung wirken, während die Mischung von je zweien dieser Kolloide einen stärkeren Effekt besitzt, als die einzeln injizierten, wenn man nur solche Kolloide mengt, welche in der elektrischen Spannungsreihe voneinander entfernt sind (z. B. Selen — Vanadium, Selen — Kobalt, Kupfer — Kobalt usw.); dagegen besitzt eine Mischung von Kolloiden, welche in der elektrischen Spannungsreihe benachbart sind, keinen nachweisbaren Vorteil vor der Anwendung der einzelnen Substanzen. Eine Steigerung des Effektes tritt durch die Kombination der Kolloide auch dann ein, wenn nur das eine derselben an und für sich wirksam ist, während das andere allein versagt (z. B. Selen und Vanadium).

Unser Plan war, wie aus dem Gesagten zu ersehen ist, der, tumoraffine Substanzen durch das schon für sich spezifisch wirksame

Cholin in die Tumoren zu transportieren. Wenn wir auch eine gewisse spezifische Wirkung der metallischen Salze besonders in kolloidaler Form in dem Sinne annehmen, daß diese autolysefördernd wirken, so glauben wir dennoch, daß die Hauptwirkung der zum Cholin zugefügten kolloidalen Metalle darin besteht, daß sie quasi als Katalysatoren auf das Cholin reaktivierend wirken. Diese unsere Ansicht wird durch unlängst publizierte Versuche von Sellei bestätigt. Sellei konnte nämlich feststellen, daß die toxische Wirkung von Cuprum kalium tartaricum durch Zusatz von Eosin, Methylenblau sowie besonders von kolloidalen Metallen erheblich erhöht und beschleunigt wurde. Während z. B. eine gewisse Dosis von Cuprum kalium tartaricum die Tiere nur in 5—6 Tagen tötet, starben die Tiere innerhalb 3—4 Stunden, wenn zu der angewandten Lösung etwas Kolloid zugesetzt wird, wobei zu bemerken ist, daß sich das Kolloid an und für sich als ungiftig erwies. So betrachten wir bei unseren therapeutischen Versuchen den Zusatz von kolloidalen Metallsalzen zum Teil als eine spezifische chemisch, zum Teil aber als eine spezifisch katalysierende Wirkung.

Wir wollen nun zu der Beschreibung unserer Tierversuche übergehen und hoffen, in dem Gesagten den Gedankengang und die Motive derselben verständlich gemacht zu haben. Die Experimente wurden auf der histoparasitologischen Abteilung des Institutes (Prof. v. Wasielewski) angestellt, von der wir auch die Tumortiere geliefert erhielten.

Unsere Versuchsanordnung war so gewählt, daß wir neben den Versuchstieren stets die doppelte Anzahl von unbehandelten Kontrolltieren zurückhielten, damit wir die spontane Rückbildungstendenz derselben an einer möglichst großen Anzahl von Tieren beobachten könnten. Wir hatten anfangs die Versuche mit einem Mäuse-Spontantumorstamm in der 28.—36. Generation gemacht. Dieser Tumor gab bei der Übertragung eine Ausbeute von 60—80 % und zeigte eine Rückbildungsquote von 0—3,5 %. Wenn auch die ganze Art der Rückbildung, besonders aber auch das histologische Bild keinen Zweifel darüber zuläßt, daß die Rückbildungen, die wir erzielten, keine spontanen sind, hielten wir doch an diesem Prinzip der doppelten Zahl von Kontrolltieren auch bei unseren späteren Versuchen fest, bei denen die Rückbildungstendenz der Tumoren fast 0 % war. Durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Professor Apolant, dem wir auch an dieser Stelle unseren verbindlichsten Dank aussprechen möchten, erhielten wir Mäuse mit sehr virulentem

Karzinom und Sarkom; diese Tumoren haben wir jetzt schon durch mehrere Generationen transplantiert. Beide Tumorarten geben eine Ausbeute von 85—95 %, die Rückbildungstendenz des Sarkoms beträgt 0—0,5 %, die des Karzinoms 2—3 %. Diese minimale Rückbildungstendenz ist ein wichtiges Argument für unsere Annahme, daß die von uns beobachteten Veränderungen und Rückbildungen der Tumoren keine spontanen waren. Es ist dies um so mehr zu betonen, als z. B. Meidner nach unserer ersten vorläufigen Mitteilung die hohe Prozentzahl der spontanen Rückbildungen beanstandet hat und auch die Rückbildungen bei den therapeutischen Versuchen nur als spontane angesehen wissen wollte.

Unsere Versuche stellten wir 1. mit Cholinsalzen, 2. mit kolloidalen Metallen, 3. mit Gemischen dieser beiden an. Wir kamen im Laufe unserer Experimente zu dem Ergebnis, daß zwar mit beiden Komponenten eine gewisse Beeinflussung der Tumoren zu erzielen ist, als Optimum aber die Mischung von Cholinsalzen mit den Kolloiden bezeichnet werden muß. Speziell zeigte es sich, daß die Kolloide allein niemals zu einer definitiven Rückbildung der Tumoren führen; in dieser Beziehung sahen wir keinen Unterschied zwischen den einzelnen Kolloiden, obwohl sie in bezug auf die Wirkung in Verbindung mit Cholin sonst recht verschieden sind[1]). Als wirksame Kolloide können wir folgende bezeichnen:

Selenvanadium
Zinkoxyd
Kupfer
Zinn
Kobalt
Eisen
Kuprokobalt.

Von diesen sind wieder das Selenvanadium, Zinkoxyd und Kuprakobalt am wirksamsten. Die kolloiden Metallpräparate wurden

[1]) Eine Bestätigung dieser unserer Ansicht bringt eine während der Drucklegung dieses Artikels erschienene Arbeit von Achard: Le sang et les organes hématopoiétiques du lepin après les injections intraveineuses de sélénium colloidal (Archives de médecine expérimentale). Achard kommt nämlich hier zu dem Schluß, daß das kolloidale Selen mit dem kolloidalen Silber analoge Veränderungen macht und daß diese Veränderungen nicht durch die Art des Metalles, sondern durch die Form, wie sie angewandt werden (also die kolloidale Form), hervorgerufen werden.

von den Laboratoires Clin (Comar & Cie.), Paris, nach unseren Angaben hergestellt und uns in liberalster Weise zur Verfügung gestellt.

Während wir — wie aus dem eben Gesagten hervorgeht — mit den Kolloiden allein nie imstande waren, Tiere vollkommen zu heilen, gelang dies mit einigen Cholinsalzen auch allein und ohne Zusatz von Kolloiden. Vollkommene Heilungen konnten wir erzielen mit dem borsauren, jodbenzoesauren, ameisensauren und Glykocholl-Cholin. Diese günstige Beeinflussung durch die Cholinsalze konnte durch den Kolloidzusatz beträchtlich beschleunigt werden. Aus den weiter unten stehenden Protokollen ist der Grad und die Art des Rückganges ersichtlich.

Da es aber zu weit führen würde, sämtliche Protokolle in extenso mitzuteilen, seien dieselben hier nur insoweit reproduziert, als sie zum Belege für unsere Ergebnisse nötig erscheinen.

Aus den Protokollen ergibt sich, daß die zur Wirkung nötige Dosis für die einzelnen Injektionen 1,5—0,2—0,25 ccm einer Mischung von einem Teil des Kolloids mit 9 Teilen des 2%igen Cholins oder auch einer Mischung von 3:7 betrug. Die Zahl der Einspritzungen, welche bis zur völligen Beseitigung der Tumoren nötig war, schwankte zwischen 6 und 12. Als die zurzeit günstigste Mischung erwies sich für uns jene von borsaurem Cholin mit Selenvanadium, mit deren Hilfe es gelang, durch etwa 6mal wiederholte Einspritzung von 0,2 ccm bei einem Verhältnisse von 9 Teilen Borcholins auf 1 Teil Selenvanadium große Tumoren binnen 3 Wochen zum vollständigen Verschwinden zu bringen. Auch mit Hilfe der anderen kolloiden Mischungen wurden ähnliche Effekte erzielt, doch lag hier meist die Dosis der für die Tiere letalen Menge näher. Insbesondere änderte sich die Toxizität je nach der Art der gewählten Kolloide, während die Wahl unter den als brauchbar erkannten Cholinsalzlösungen von geringer Bedeutung war.

Herr Dr. Schneider beschreibt die histologischen Veränderungen bei den Rattentumoren folgendermaßen:

Es handelt sich um ein ausgesprochenes kleinzelliges Spindelzellensarkom, von faszikulärem Bau mit mäßigem Gefäßreichtum.

An gewissen Stellen sind die kapillaren Gefäße enorm erweitert, fast kavernös, strotzend mit Erythrocyten gefüllt; vielfach kommt es auch zu Blutungen. Inmitten dieser hyperämischen Zonen liegen unregelmäßige Nekrosen, immer ziemlich scharf begrenzt, die Zellen sind noch als unregelmäßige Trümmer erkennbar, die Gefäße in ihren Konturen sichtbar, aber überall ein totaler Kernschwund; in

den Übergangszonen zeigen sich die Zellen gelockert, dissoziiert abgerundet, die Kerne hochgradig pyknotisch, vielfach in karyorektischer Auflösung, in den erweiterten Gefäßen finden sich hyaline Gerinnungen mit spärlichen Leukocyten; bemerkenswert ist, daß irgendwelche leukocytäre Reaktion in und um die Nekrosen fehlt.

Die Genese des Prozesses ist anscheinend derart, daß irgend ein Reiz zu einer stärkeren Reaktion auf die Gefäße führt, der Hyperämie und Hämorrhagie und schließlich hyaline Thrombosen zur Folge hat; gleichzeitig oder sekundär kommt es zur Degeneration der Geschwulstelemente, die über pyknotischen Kernschwund zur völligen Nekrose der betroffenen Teile führt. Die Hyperämie kann nicht wohl eine Folge und Reaktion auf eingetretene Nekrosen sein, da sich auch hyperämische Partien finden, ohne daß es bereits zur Nekrose darin gekommen ist. Stellenweise bleibt auch die Veränderung innerhalb ausgedehnter hyperämischer Zonen auf eine Pyknose und Karyorexis beschränkt, ohne daß es zur völligen Nekrose kommt. Das Fehlen jeder leukocytären Reaktion spricht gegen eine infektiöse Natur des nekrotisierenden Prozesses.

Die histologischen Veränderungen waren bei den mit Cholin allein und den mit Cholinkolloid-Gemischen behandelten Tieren die gleichen. Die Art der Beeinflussung ist also dieselbe geblieben, und der Zusatz von den Kolloiden hat nur das Tempo der Reaktion beschleunigt. Dasselbe beweisen die Befunde bei den Mäusetumoren, mit dem Unterschied, daß, während wir bei Ratten nur die eine Kombination: Borcholin + Selenvanadium erprobt hatten, wir bei den Mäusen noch mehrere andere Kolloide und Cholinsalze angewandt und dann auch histologisch geprüft hatten.

Über die Veränderungen bei Mäusetumoren schreibt Herr Dr. Schneider folgendes:

Präparat Nr. 3003 (Versuch A. II. 3. Behandelt mit Borcholin + Selenvanadium). Cubozelluläres Karzinom, angedeutet adenomatöser Typ, spärliches gefäßhaltiges Stroma, stark proliferierend. Enthält zahlreiche fleckförmige und größere plexiforme Nekrosen. Um diese herum liegen immer Zonen mit starker Karyorexis und Zerfall der Tumorzellen, darauf folgt eine hochgradige pyknotische Tumorschicht, die zu den erhaltenen Tumorzellen überleitet. Die den Zerfall einleitende Hyperämie ist hier nicht so ausgesprochen. Vielfach ist die An-

ordnung so, daß die erhaltenen oder bei stärkerem Zerfall die pyknotischen Zellen um die Gefäße liegen, und dazwischen dann die stärker destruierten Schichten angeordnet sind. Sehr bemerkenswert ist auch hier das Fehlen jeder sonstigen entzündlichen (leukocytären) Reaktion.

Ganz die gleichen Befunde ergibt das Präparat Nr. 3009. Versuch A. I. 3. Behandelt mit Borcholin + Kuprokobalt.

Präparat Nr. 2991. Versuch A. II. 5. Behandelt mit Borcholin + Zinkoxyd, Karzinom von fast gleichem Typus, fast ganz solid, nur stellenweise noch adenomatös. Zeigt ganz analoge Bilder, die Nekrosen sind noch ausgedehnter als in den vorhergehenden Präparaten und treten in gleicher Weise auf. Trotz des hohen Zerstörungsgrades fehlt jede eigentliche Entzündung.

Präparat Nr. 2990. Versuch B. II. 4. Behandelt mit Borcholin + Cuprum colloidale. Polymorphzelliges, vorwiegend rund- und großzelliges Sarkom, stellenweise von retikulärem Bau, zahllosen Mitosen, ausgedehnte insuläre Nekrosen. In den Anfangsstadien zeigt sich Hyperämie, Quellung und Auflockerung der Geschwulstzellen, es folgt Neigung zu pyknotischem karyorektischem Kernzerfall, der zur völligen Nekrose führt. Auch hier sind keine entzündlichen Prozesse nachweisbar.

Wie aus den histologischen Befunden zu ersehen ist, können wir durch Einspritzung gewisser Substanzen regelmäßig dieselben mikroskopischen Veränderungen in den Tumoren hervorrufen.

Die makroskopisch sichtbaren Veränderungen sind derart, daß zuerst eine deutliche, über den ganzen Tumor sich erstreckende Hämorrhagie eintritt (vgl. Tafel X, Fig. 3), die allmählich abnimmt, so daß makroskopisch nur noch an einigen Stellen isoliert solche starke Hämorrhagien zu sehen sind (Tafel XI, Fig. 5). Nach diesem hämorrhagischen Stadium tritt eine deutliche Veränderung in der Konsistenz der Tumoren ein, sie werden weich, bröckelig, sie brechen auf die leiseste Berührung auseinander. An Tafel X, Fig. 4 ist, soweit das auf dem Bild zu reproduzieren ist, diese Veränderung sichtbar, ganz besonders deutlich am einen Ende des Tumors. Nach diesem Stadium tritt dann die Verflüssigung und das allmähliche Verschwinden der Tumoren ein. Auf Tafel XII, Fig. 7 ist eine Maus vor der Behandlung, auf derselben Tafel Fig. 8 dieselbe Maus nach der Behandlung mit Borcholin + Selenvanadium zu sehen.

Was nun unsere Protokolle anbelangt, so sollen zuerst einige davon einzeln mitgeteilt werden.

1. Mäusekarzinom (Serie II, Nr. 3), behandelt mit borsaurem Cholin + Selenvanadium subkutan. Cholin und Kolloid wurden im Verhältnis von 9:1 gemischt und mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Es wurden 2tägig 0,5 ccm gespritzt.

	Größe des Tumors
12. Juli.	2,0—1,8
14. „	2,2—2,0
16. „	2,2—1,4
18. „	2,0—1,3
20. „	2,0—1,3
22. „	1,8—1,0
24. „	1,4—0,8
28. „	1,0—0,4

Wir hören mit den Einspritzungen auf.

2. August	0,4—0,2
10. „	Der Tumor ist verschwunden,

man fühlt an seiner Stelle ein kleines, nicht meßbares Strängchen.

2. Mäusekarzinom (Serie III, Nr. 7). Behandlung wie vorher.

	Größe des Tumors
6. Juni	0,8—1,6
8. „	1,0—1,9
10. „	1,1—1,8
12. „	0,8—1,5
14. „	0,4—1,0
16. „	0,2—0,4
18. „	0,2—0,3
28. „	Vom Tumor ist nichts mehr zu fühlen.

3. Mäusesarkom (Serie V, Nr. 4). Behandlung mit borsaurem Cholin und Zinkoxyd. Dosierung wie vorher.

	Größe des Tumors
6. Oktober	1,0—1,3
8. „	0,9—1,1
10. „	1,1—1,4
12. „	1,0—0,8
15. „	0,8—0,8
18. „	0,4—0,5
21. „	0,2— nicht mehr meßbar.
26. „	Der Tumor ist nicht mehr zu fühlen.

4. Mäusekarzinom (Serie III, Nr. 6). Behandelt mit borsaurem Cholin und Selenvanadium. Dosierung wie bei Nr. 1.

	Größe des Tumors
22. Juli	0,9—1,1
24. „	1,1—1,1
26. „	0,9—0,8
28. „	1,1—1,0
30. „	0,8—1,9
2. August	0,6—0,6
5. „	0,3—0,2
12. „	Der Tumor ist nicht mehr zu fühlen.

5. Rattensarkom (Versuch 19. B. 1). Behandelt vom 18. VI. bis zum 2. VII. mit zweitägigen Einspritzungen von 1,0 ccm borsaurem Cholin und Selenvanadium (9:1). Der anfangs 3,2—1,8 cm große Tumor war am 10. VII. nicht mehr zu fühlen.

6. Mäusekarzinom. Behandelt vom 7. VI. bis 30. VI. mit 8 intravenösen Einspritzungen von 0,2 % Borcholin, jedesmal 0,4 ccm. Der Tumor verschwand ganz allmählich und Mitte August war nichts mehr vom Tumor zu fühlen.

7. Rattensarkom. Behandelt vom 5. III. bis 15. V. subkutan mit Borcholin 2 %. 10 Einspritzungen zu je 0,5 ccm wurden gemacht. Am 5. VI. ist der Tumor ganz verschwunden. Bei diesen beiden letzten Fällen wurden die Tumoren wöchentlich einmal kontrolliert. Der Rückgang war ganz allmählich eingetreten.

Vielleicht genügt es, wenn wir von der großen Anzahl von Protokollen nur diese wenigen veröffentlichen, da ja alle im Prinzip das gleiche enthalten.

In der hier folgenden Tabelle sind die Resultate aus einer Versuchsreihe zusammengestellt, während die zweite Tabelle einen Überblick über die Wirksamkeit der untersuchten Präparate gibt. Von einer Zusammenstellung der als unwirksam gefundenen Präparate wollen wir ganz absehen, darum sind in Tabelle II nur diejenigen Präparate bzw. Kombinationen erwähnt, die, wenn auch in einer ganz geringen Zahl, positive Resultate zeigten. (Tabelle I u. II auf S. 42—43).

In dieser Zusammenstellung sind nur die Tiere inbegriffen, die am Leben geblieben sind. Die Gesamtzahl der in Versuch genommenen Tiere war eine bedeutend höhere. Wir hatten am Anfang bei einigen Mischungen viele Schwierigkeiten mit der Dosierung,

Tabelle I.

Protokollbeispiele aus der II. und III. Serie.

Nummer der Maus	Gespritzt mit	12. VII.	15. VII.	17. VII.	20. VII.	25. VII.	26. VII.	4. VIII.	8. VIII.	12. VIII.
V. 38. L. 2.	Borcholin + Selenvanad. jeden zweiten Tag 0,5 ccm der Mischung 9 : 1	1,2—1,0	1,5—1,1	1,6—1,1	1,2—1,2	1,0—0,8	0,6—0,4	Geheilt	—	—
V. 38. L. 4.		2,0—1,5	2,2—1,4	2,4—1,1	2,7—1,0	2,2—1,0	1,9—0,9	1,4—0,5	0,5—	Geheilt
V. 39. B. 5.		2,0—1,3	1,4—1,1	1,2—1,0	1,2—1,0	1,0—0,6	0,4—0,2	Geheilt	—	—
V. 39. E. 8.		2,6—1,2	2,2—1,2	2,1—1,0	1,6—0,8	1,0—0,6	0,5—0,2	Geheilt	—	—
V. 38. F. 4.	Borcholin + Zinkoxyd jeden 2. Tag 0,3 ccm der Mischung 9 : 1	0,9—2,1	1,0—1,2	1,1—1,2	1,0—1,0	0,8—0,6	0,3—0,3	0,1—0,1	Geheilt	—
V. 39. B. 1.		1,2—3,1	1,4—3,0	1,5—2,6	1,6—2,2	1,2—1,8	0,8—1,0	0,4—0,6	0,4—0,2	Geheilt
V. 39. D. 4.	Selenvanadium jeden 2. Tag 0,5 ccm der Originallösung	3,1—1,6	2,9—1,6	3,2—1,4	3,8—2,4	3,3—2,1	3,3—2,0	4,3—2,8	3,9—2,8	—
V. 38. K. 1.		1,5—1,2	2,1—1,4	2,0—1,6	2,3—1,4	2,3—1,6	2,5—1,6	—	—	—
V. 38. L. 5.	Borcholin + Kupfer 9 : 1 zweitäglich 0,3 ccm	1,0—1,3	0,9—1,1	1,1—1,2	0,8—0,8	0,4—0,5	0,2—0,2	Geheilt	—	—
V. 38. C. 2.		1,0—2,1	1,6—1,9	1,6—1,9	1,0—1,2	0,9—0,6	0,5—0,4	0,3—0,2	0,1—0,1	Geheilt
V. 38. C. 3.		1,1—2,5	1,1—1,9	0,9—1,3	0,6—1,0	0,3—0,5	0,1—0,2	Noch ein	Strängchen	fühlbar
V. 40. A. 1.	Borcholin + Zinn 9 : 1	0,8—1,2	1,0—1,0	0,6—0,6	0,6—0,3	0,5—0,2	0,2—0,2	Geheilt	—	—

NB. Die Tiere wurden vom 12. VII. bis 28. VII. regelmäßig alle zwei Tage gespritzt mit den oben genannten Dosen und Mitteln. Bei manchen wurde noch zwischen 4. und 8. VIII. eine letzte Injektion gegeben. Mehrere Tiere sind während der Behandlung z. T. durch Anfressen der schon erweichten Tumoren gestorben; diese Tiere wurden aus dieser Tabelle weggelassen.

Tabelle II.
Übersicht über die Behandlung mit Cholin-Kolloidmischungen.

Cholinsalz	Kolloid	Behandelt wurden im ganzen	Vollkommen geheilt	Der Tumor stark verklein., doch nicht ganz verschwunden[1]	Kein Rückgang des Tumors
Borsaures Cholin	Selenvanadium	16	9	7	0
	Zinkoxyd	6	3	2	1
	Kuprokobalt	4	1	3	0
	Eisen	8	0	4	4
	Kupfer	6	2	1	3
	Zinn	2	1	1	0
	Kobalt	6	0	2	4
Jodbenzoesaures Ch.	Selenvanadium	9	4	4	1
Glykocholl-Cholin	„	10	4	6	0
	Zinkoxyd	6	1	2	3
	Eisen	2	0	1	1
Ameisensaures Ch.	Selenvanadium	4	2	2	0
Atoxyl-Cholin	„	2	1	1	0
Nukleinsaures Ch.	„	4	1	2	1
		85	29[2]	38	18

und später zeigte es sich, daß selbst die Dosis, die wir durchschnittlich als unschädlich gefunden haben, sich nicht bei allen Tieren als gleich wirksam und gleich ungiftig erwies. Vollkommen konstant und gleichmäßig wurden nur die Dosen für Borcholin und Selenvanadium vertragen. Es sind hier offenbar individuelle Unterschiede vorhanden, die sich bei den allerdings recht geringen und harmlosen Nebenerscheinungen, die während und nach der Injektion bei Menschen beobachtet wurden, ebenfalls konstatieren lassen. Außerdem werden von den Tieren die Injektionen sehr verschieden vertragen, je nachdem sie intravenös oder subkutan gegeben wurden. Bei Mäusen gelingt zwar die intravenöse Injektion nach der Technik, die Keysser bei v. Wassermann ausgearbeitet hat, ziemlich gut, doch vertragen manche Mäuse selbst ganz geringe Dosen sehr

[1]) In diese Rubrik wurden auch jene Fälle gerechnet, in denen nur kleine Strängchen oder Körnchen von den Tumoren übrig blieben. Meist war die Rückbildung bis zu diesem Stadium vorgeschritten, im ungünstigsten Falle waren etwa erbsengroße Reste geblieben.

[2]) Während der Drucklegung der Arbeit kamen noch 7 vollgeheilte Tiere zu.

schlecht, während dieselbe Dosis subkutan gegeben anstandslos vertragen wird. Bei Ratten wandten wir ausschließlich subkutane Injektionen an, und zwar aus dem Grunde, weil da die intravenösen Einspritzungen auf große Schwierigkeiten stoßen. In die Schwanzvene kann man nur 1 bis 2 Injektionen machen und auch die sehr schwer; noch schwieriger sind die intravenösen Injektionen in die Schenkelvene.

Die im Laufe der Behandlung gestorbenen Tiere verwandten wir dazu, um die einzelnen Stadien der Rückbildung und Heilung zu studieren. Es zeigte sich dabei, und dieser Befund wurde auch durch die histologische Untersuchung bestätigt, daß die Rückbildung zunächst mit einem Ödem beginnt, welch letzteres verursacht, daß in den ersten 2—3 Tagen nach den ersten Einspritzungen die Tumoren scheinbar an Größe zunehmen. Dieselben Beobachtungen haben wir auch beim Menschen gemacht. Dieses Ödem nimmt aber ganz rapid ab, und es beginnt damit gleich die Schrumpfung und Verkleinerung des Tumors. Die makroskopisch sichtbaren Veränderungen an den Tumoren zeigen sich in Hämorrhagien, anfangs im ganzen Tumor, später tritt diese Hämorrhagie etwas zurück, und es sind nur noch an einzelnen Stellen des Tumors Hämorrhagien sichtbar. Die von der Hämorrhagie befreiten Partien der Tumoren sind in ihrer Konsistenz schon makroskopisch sichtbar verändert, es beginnt ein langsamer Zerfall und Verflüssigung des Tumors. Es gelingt bei manchen Tieren in diesem Stadium, mit einer Spritze aus dem Tumor dessen verflüssigten Inhalt zu entnehmen. Bei der mikroskopischen Untersuchung dieses verflüssigten Inhalts erwies sich dieser als aus Zelltrümmern und Detritusmassen bestehend. Diese Verflüssigung tritt in der zweiten Woche der Behandlung auf, die komplette Heilung, Resorption der Tumoren erfolgt in der 3. bis 4. Woche. Wenn auch die rapide quasi momentane Verflüssigung und nachfolgende ebenfalls rasche Resorption der Tumoren biologisch höchst interessant und aus dem Gesichtspunkte einer Therapia sterilisans magna zu erstreben ist, so sind wir doch der Meinung, daß speziell bei den malignen Geschwülsten eine langsame Resorption der Tumoren eine rationellere ist.[1])

[1]) Wir möchten hier noch ganz kurz einen Versuch erwähnen, den Herr Dr. Ascher im Anschluß an unsere Experimente angestellt hat. Er hatte einige Ratten (im ganzen 5) mit Thyreoideapreßsaft gespritzt, und es gelang ihm, durch dieses Mittel eine Ratte vollkommen zu heilen. Wir hatten bereits in unserer ersten Mitteilung kurz bemerkt, daß wir es für möglich hielten, daß

Diese Versuche stellen noch keineswegs den Abschluß unserer Studien auf diesem Gebiete dar. Es hat sich aber schon jetzt gezeigt, daß es möglich ist, durch intravenöse sowie subkutane Injektionen von einigen Cholinsalzlösungen, gemischt mit kolloidalen Schwermetallen, Mäuse- und Rattentumoren zum Verschwinden zu bringen, ferner in jenen Fällen, wo die Heilung der Geschwülste nicht vollkommen gelang, wenigstens eine sehr bedeutende Beeinflussung derselben im Sinne einer Abtötung und Rückbildung zu erzielen. Wir dürfen daher aus unseren Versuchen schließen, daß die von uns angewandten Mittel spezifisch auf die Tumoren wirken. Da es jedoch unmöglich ist, aus den Ergebnissen der Tierversuche direkte Schlüsse auf die Wirksamkeit bei Menschen zu ziehen, die Anwendung bei letzteren aber im Hinblick auf die selbst bei großen tierischen Tumoren erreichten Erfolge nicht von vornherein als aussichtslos erscheint, so hielten wir uns für verpflichtet, die therapeutischen Experimente mit aller gebotenen Vorsicht auch bei Menschen vorzunehmen. Die hier gemachten Erfahrungen, die sich bereits über eine beträchtliche Anzahl erstrecken, sollen in unserer nächsten Mitteilung veröffentlicht werden.

---

diese Heilwirkung durch cholinähnliche Substanzen der Thyreoidea hervorgerufen sein könnte. Wenn wir diesen Versuch, den wir selbst später in einigen wenigen Fällen mit Erfolg wiederholt haben, mit denen von Goldzieher mittels Parathyreoidins vergleichen, und wenn wir die Untersuchungen von Fürth, Schwarz, Lohmann u. a. in Betracht ziehen, die bewiesen hatten, daß sämtliche Organextrakte, besonders aber die Schilddrüsenextrakte, in ziemlich hohen Dosen Cholin enthalten, so sind für diese Heilwirkung von Schilddrüsenextrakten und Preßsäften zweierlei Erklärungsmöglichkeiten vorhanden: entweder ist das wirksame Substrat dieses Extraktes — wie wir das anzunehmen geneigt sind — das Cholin, oder das Cholin hat hier nur eine Teilwirkung. In letzterem Falle sollte man aber auch mit anderen Organextrakten ähnliche Heilerfolge erzielen können, doch sprechen die Versuche Goldziehers, der auch Ovarien- und Hodenextrakte untersucht hat, gegen diese letztere Annahme. E. H. Jones (British med. Journ. 1911, S. 432) erklärt die günstige Wirkung des Thyreoidins dadurch, daß es durch eine Verstärkung des Eisenstoffwechsels die Lebensdauer der Karzinomzellen verkürzt. Unsere Versuche in dieser Richtung sind noch zu geringer Zahl, als daß wir darüber etwas Definitives sagen könnten, doch beweisen außer unseren eigenen Experimenten diejenigen von Goldzieher sowie von Uhlenhuth und Dold, daß die experimentelle Therapie der malignen Geschwülste auch auf diesem Wege zu Resultaten führen kann.

Literatur-Verzeichnis.

Arbeiten a. d. 2. chirurg. Klinik z. Wien, Jahrg. 1904—1905.

Aubertin et Beaujard, C. r. de la Soc. de biol., 7. III. 1905.

Ferd. Blumenthal, Die Chemotherapie der bösartigen Geschwülste mit aromatischen Arsenverbindungen. Med. Klin. 1912, Nr. 30.

Busquet et Pachon, Choline et glandes hypotensives. Comptes rendus de la Soc. de biol., Bd. 68, p. 156.

Benjamin, Reuß, Sluka und Schwarz, Beiträge z. Frage der Einwirkung d. Röntgenstr. auf d. Blut. Wiener klin. Wochenschr. 1906, Nr. 26.

Bougeant, Résultats comparatifs du traitement par le Sélénium des cancres de l'homme et des animaux (Communication faite au Premier Congrès internationale de Pathologie comparée, Paris, 17—23 Octobre 1912).

Bougeant et Galliot, L'éléctrosélénium dans le traitement du cancer inopérable. La clinique, 9. VIII. 1912.

Blumenthal, Journ. méd. de Bruxelles, 8. VIII. 1912.

Benjamin-v. Reuß, Röntgenstrahlen und Stoffwechsel. Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 38.

Busquet et Pachon, Choline et ovaire. C. r. de la Soc. de biol., Bd. 68, p. 229.

Czerny und Caan, Erfahrungen mit Salvarsan bei malignen Tumoren. Münch. med. Wochenschr. 1911, Nr. 17.

Czerny, Über die nichtoperative Behandlung der Geschwülste. Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 41.

Claude et Blanchetière, Recherches sur la présence de la choline dans le sang. Journ. de phys. et path., vol. 9, H. 1, S. 87.

Daniel, Colloides et eaux minérales (Thèse de Paris 1910).

Duhamel, Rebière, Juillard, Propiiétés chimiques et biologiques du Sélénium Colloidal électrique (Extrait des comptes rendus de la Soc. de biol. 1912, Bd. 72).

Exner und St. Zdarek, Zur Kenntnis der biologischen Wirksamkeit des Cholins. Wiener klin. Wochenschr. 1905, Nr. 4.

Exner und Sywek, Weitere Erfahrungen über die Wirksamkeit des Cholins. Deutsche Zeitschr. für Chirurgie, Bd. 78, H. 4—6.

Exner und Zdarek, s. Arb. a. d. 2. chirurg. Klin. z. Wien, Jahrg. 1904 bis 1905.

Exner und Sywek, s. Arb. a. d. 2. chirurg. Klin. z. Wien, Jahrg. 1904 bis 1905.

Engel, Chemotherapeutische Versuche mit Adrenalin und ähnlich konstituierten Stoffen bei tumorkranken Tieren. Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther., Bd. XI, H. 1.

Fürth, Probleme d. phys. u. path. Chemie. Vogel, Leipzig 1912.

Fürth und Schwarz, Über die Natur der blutdruckerniedrigenden Substanzen in den Schilddrüsen. Pflügers Archiv, Bd. 124, H. 3—5 und 7—8.

Goldzieher, Experimentelle Beiträge zur Biologie der Geschwülste. Verh. d. Dt. path. Ges. 1912, S. 283.

Girard und Cade, Lyon méd., 30. VI. 1912.

Girard, Thèse de Lyon 1912.

Gaube du Gers, La cuprase et le cancer. Paris, Rousset.

Henry et Mayer, Comptes rendus de la Soc. de biol., vol. 56.

Hippel und Pagenstecher, Münch. med. Wochenschr. 1905.

Hoffmann, s. Arb. a. d. 2. chirurg. Klinik z. Wien, Jahrg. 1904—1905.

Heineke, Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf das Knochenmark. Dt. Zeitschr. f. Chir., Bd. 78, S. 196.

Derselbe, Über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf innere Organe. Münch. med. Wochenschr. 1901, Nr. 38.

Izar, Wirkung kolloiden Schwefels auf Rattensarkom. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. XV, H. 2—3, S. 238.

Jolfrain, Thérap. colloidale en syphiligraphie et en dermatologie (Annales des Maladies vénériennes) Paris 1910.

Iscovesco, Quelques considérations préliminaires sur l'emploi thérapeutique des métaux colloidaux électriques à petits grains (C. r. d. la Société de Biologie, I, 1907, p. 493).

Derselbe, Propriétés thérapeutiques des métaux colloidaux électriques à petits grains (Presse Médicale, 8 mai 1907).

Jaboulay et Horand, Soc. nat. de méd. de Lyon 10. Jul. 1905.

Jaboulay, Recherche sur les tumeurs épithéliales 1904.

Derselbe, Lyon méd. 30. VIII. 1903.

Krause und Ziegler, Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf tierisches Gewebe. Fortschr. a. d. Geb. d. Röntgenstr., Bd. X, 1906.

Lohmann, Über antagonistische Wirkung der in den Nebennieren enthaltenen Substanzen: Suprarenin und Cholin. Pflügers Archiv, Bd. 122, S. 203.

Derselbe, Neurin, ein Bestandteil der Nebennieren. Pflügers Archiv, Bd. 128, S. 142.

Linser und Helber, Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 23; 1905, Nr. 15; Dt. Arch. f. klin. Med., Bd. 83.

Jacques Loeb, Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies. Bioch. Zeitschr., Bd. 26—29.

Mosetig-Moorhof, Wiener med. Presse 1891, Nr. 6.

Hans Meyer und Fr. Bering, Fortschr. a. d. Geb. d. Röntgenstr., Bd. 17, H. 1.

Mesernitzki, Russkij wratsch 1910, No. 12.

Müller, Beitrag zur Analyse der Cholinwirkung. Pflügers Archiv, Bd. 134, S. 289.

Much, Über die Auflösbarkeit von Tuberkelbazillen durch Neurin und Cholin. Münchn. med. Wochenschr. 1910, S. 1093.

Derselbe, Zentralblatt f. Bakt., Bd. 54, S. 242.

Fritz Munk, Die Bedeutung der Kolloide im Organismus und ihre chemische Beeinflussung. Zeitschr. f. Chemotherapie, II. Teil, I. Jahrg., H. 8 und 10—11.

F. M. Meyer, Über Erfahrungen mit Adrenalinanämie für die Röntgentherapie. Dermatol. Zeitschr., Bd. 18, H. 10, S. 904.

Neuberg und Caspari, Tumoraffine Substanzen. Dt. med. Wochenschr. 1912, Nr. 8.

Neuberg, Caspari, Löhe, Weiteres über Heilversuche an geschwulstkranken Tieren mittels tumoraffiner Substanzen. Berl. klin. Wochenschr. 1912, Nr. 30.

Netter et Gascuel. Soc. méd. hop. Paris. 1. III. 1912.

Nanu, Congrès de chirurgie 1892, April.

Pariset, Le rôle de la choline dans les effets cardiovasculaires produits par les sécrétions internes. C. r. de la Soc. de biol., Bd. 67, p. 749 u. 752.

Pappenheim und Plesch, Experimentelle und histologische Untersuchungen z. Erforschung d. Wirkung des Thorium x auf den tierischen Organismus. Zeitschr. f. exper. Path. u. Therapie 1912.

Dieselben, Experimentelle und histologische Untersuchungen über das Prinzip der Thorium x-Wirkung auf die Organe im allgemeinen und den hämatopoetischen Apparat im besonderen. Fol. haematol., Bd. XIV, S. 1.

Reicher, Experimentelle Beiträge zur Therapie maligner Tumoren. Dt. med. Wochenschr. 1910, Nr. 29.

Reicher und Lenz, Adrenalinanämisierung als Hautschutz in der Röntgentherapie. Münch. med. Wochenschr. 1911, Nr. 24.

Riquerive, zit. nach Bougeaut.

Ravet, Thèse de Lyon 1901.

Senn, Case of splenomedullary leukaemia successfully treated by the use of the Röntgen ray. Medical Record 1903.

Schmidt-Nielsen, Beitr. z. chem. Phys. u. Path., Bd. 5 u. 6.

Schwarz, Pflügers Archiv 1903, Bd. 100.

Schwarz und Lederer, Über das Vorkommen von Cholin in der Thymus, in der Milz und in den Lymphdrüsen.

Schwarz, Über die Wirkung der Radiumstrahlen. Pflügers Archiv 1903, S. 532.

Szécsi, Über die Wirkung von Cholinsalzen auf das Blut und über die Beeinflussung von Mäusetumoren durch kolloidale Metalle. Med. Klin. 1912, Nr. 28.

Derselbe, Diskussionsbemerkung am Mikrobiologentag Berlin 1912.

Derselbe, Berl. med. Ges. 14. Juli 1912.

Derselbe, Die Chemotherapie der malignen Geschwülste. (Vortrag, gehalten am ungarischen Naturforschertag 1912.)

Derselbe, La chimiothérapie du cancer. (Congrès de pathologie comparée Paris 1912.)

Thaler, s. Arb. a. d. 2. chirurg. Klinik z. Wien, Jahrg. 1904—1905.

Trémolière, Les colloidaux en thérapeutique. Thèse de Genève 1909.

Tschachotin, Über Strahlenwirkung auf Zellen, speziell auf Krebsgeschwulstzellen, und die Frage nach der chem. Imitation derselben. Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 44.

Trinkler, Sur la question du traitement des néoformations malignes par les solutions colloidales de métaux lourds. (Extrait du Progrès Médical, No. 40, 5 Octobre 1912.)

Thiroloix et Lancien, Soc. méd. trop. Paris, 16. II. 1912.

Thies, Wirkung der Radiumstrahlen auf verschiedene Gewebe und Organe. Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir., Bd. 14, H. 5, S. 694.

Uhlenhuth, Untersuchungen über Immunität und Chemotherapie bei experimentell erzeugten Ratten- und Mäusetumoren. Med. Klin. 1912, Nr. 37.

Uhlenhuth-Dold-Bindseil, Experimentelles zur Geschwulstfrage bei Tieren. Mikrobiologentag 1912.

Warburg, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 57, 60, 66.

A. v. Wassermann, Fr. Keysser und M. Wassermann, Chemotherapeutische Versuche an tumorkranken Tieren. Berl. klin. Wochenschr. 1912, Nr. 1.

Dieselben, Über die Beeinflussung der Geschwülste. Dt. med. Wochenschrift 1911, Nr. 51.

Walker, Ch. E., The treatment of cancer with selen. The Lancet, 18. V. 1912.

Werner, Zur biologischen Wirkung der Radiumstrahlen. Münch. med. Wochenschr. 1910, Nr. 37.

Derselbe, Exper. Untersuchungen über die Wirkung der Radiumstrahlen auf tierische Gewebe und die Rolle des Lecithins bei derselben. Zentralbl. f. Chir. 1904, Nr. 43.

Derselbe, Zur chemischen Imitation der biologischen Strahlenwirkung. Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 15.

Derselbe, Zur Kenntnis und Verwertung der Rolle des Lecithins bei der biologischen Wirkung der Radium- und Röntgenstrahlen. Dt. med. Wochenschrift 1905, Nr. 2.

Derselbe, Vergleichende Studien zur Frage der biologischen und therapeutischen Wirkung der Radiumstrahlen. Bruns' Beiträge, Bd. 52, H. 1.

Werner und v. Lichtenberg, Experimentelle Untersuchungen über die Strahlung des Gewebes und deren biologische Bedeutung. Bruns' Beiträge, Bd. 52, H. 1, S. 162.

Dieselben, Über die Wirkung von Cholininjektionen auf die Leukocytenzahl des Kaninchenblutes. Dt. med. Wochenschr. 1906, Nr. 1.

Werner, Über die chemische Imitation der Strahlenwirkung und ihre Verwertbarkeit zur Unterstützung der Radiotherapie. Strahlentherapie, Bd. 1, Heft 4.

Derselbe, Erfahrungen über die Behandlung von Tumoren mit Röntgen-, Radiumstrahlen und Cholininjektionen. Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir., Bd. 20, H. 1.

Derselbe, Vergleichende Studien über den Einfluß von Alkalien auf das Mäusekarzinom. Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir., Bd. 20, H. 1.

Derselbe, Über den Einfluß von Thermalinjektionen auf das Mäusekarzinom. Zeitschr. f. Krebsforsch., Bd. 7, H. 2.

Derselbe, Über die chemische Imitation der Strahlenwirkung und Chemotherapie des Krebses. Med. Klin. 1912, Nr. 28.

Derselbe, Berl. med. Ges., 14. VII. 1912.

Zeller, Behandlung und Heilung von Krebskranken durch innerlich und äußerlich angewendete medikamentöse Mittel. Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 34—35.

Zur Chemotherapie der Tumoren beim Menschen.

Von

Dr. **Josef Sellei,** Budapest.

Wenn auch bisher alle Versuche gescheitert sind, welche sich auf eine Herstellung etwa „spezifisch" wirkender Cytolysine bei Krebszellen bezogen, weiters wenn alle nach unseren bisherigen Kenntnissen der aktiven oder passiven Immunisierung angestellten Versuche beim menschlichen Karzinom erfolglos blieben, so nahm ich doch wieder diese Versuche auf und untersuchte vorerst, ob größere Mengen eines aus dem Tumor des betreffenden Kranken hergestellten Tumorautolysats demselben oder einem anderen Kranken subkutan injiziert von etwaigen Reaktionen begleitet werden. Um dies kontrollieren zu können, wählte ich anfangs nur Mamma und Gesichtskarzinome, also sichtbare Fälle, aus. Der frisch exstirpierte Tumor wurde mit größter Asepsis fein zerstückelt und in der Kugelmühle zu einem Brei verarbeitet, dann in physiologischer Kochsalzlösung eine 10 %ige Emulsion bereitet, bis ½ % karbolisiert und im Eisschrank aufbewahrt. Mit diesem Autolysat wurden nun erst homologe Karzinomkranke behandelt, Mammakarzinome mit Mammakarzinomemulsion, Lippenkarzinome mit aus Lippenkarzinom hergestelltem Autolysat. Doch stellte es sich bald heraus, daß dies ganz gleichgültig ist. Es waren nun bei den behandelten Kranken unleugbar in vielen Fällen Reaktionen aufgetreten, doch zeigten dieselben keine Abhängigkeit von der Provenienz des Autolysats. Vielmehr schien es, als ob die Wirkung eher mit der Größe der zur Anwendung gelangenden Dosis im Zusammenhange stehen würde. Ich gab erst 10 cm^3 subkutan, dann stieg ich bis auf 35—40 cm^3 des Autolysats. Die Reaktionen, die sich nun einstellten, waren teils allgemeine, teils lokale. Die allgemeine Reaktion offenbarte

sich in Temperaturerhöhung, welche bis 38,5° aufstieg, dann in allgemeiner Schwäche, Mattigkeit, Kopfschmerzen. Die lokale Reaktion trat besonders in der Nachbarschaft und in dem Tumor selbst auf. Das Karzinom wurde in einigen Fällen rötlich entzündet, weicher und in einigen Fällen von einem roten Hof umgeben. Es kam hin und wieder zu einer ganz deutlichen Einschmelzung des Tumorgewebes; der Tumor wurde bedeutend kleiner, und gar mancher Kranke hielt dies für einen besonderen Fortschritt und hoffte baldige vollständige Genesung, welcher Anschauung wir freilich stets mit größter Skepsis entgegentraten. Mit einem Worte, die Behandlung mit größeren Dosen Autolysats erweckte in vielen Fällen den Anschein, daß dadurch Reaktionen entstehen könnten, welche sich in allgemeinen und lokalen Symptomen kundgaben. (Bemerkt muß werden, daß längere Zeit, 5 bis 6 Wochen, lang gestandene Autolysate ihre Wirkung einbüßen. Es scheinen da solche chemische Umwandlungen einzutreten, welche störend einwirken. Ich komme später noch auf diesen Punkt zurück.) Es wurden selbstverständlich nur inoperable Fälle zur Behandlung herangezogen, und will ich da in kurzem einen in dieser Weise mit Karzinomemulsion auf der Abteilung des Prim. Dr. L. Farkas (St. Rochus-Spital) behandelten Fall erwähnen, wo bei einem an Zungenkrebs leidenden Kranken namens Alois B-m. auf die Injektionen 37—37,8° Fieber und anfangs eine erhebliche Erweichung des Tumors eintrat. Der Tumor, welcher bis dahin den Patienten am Sprechen und Schlucken verhinderte, wurde zusehends kleiner und weicher. Nach einer ca. drei Monate andauernden Besserung jedoch verschlimmerte sich wieder der Zustand des Patienten und erlag er dann nach weiteren 2 Monaten seinem Leiden. Bei einem anderen Patienten mit Carcinoma gingivae, der mir vom Oberarzt Dr. H. Eisler (Charité-Poliklinik) zugewiesen wurde, war ebenfalls dieselbe scheinbare Besserung eingetreten. Die Injektionen waren auch in diesem Falle ebenfalls mit allgemeinen Erscheinungen, Temperaturerhöhungen verbunden.

Diese nach Injektionen von Karzinomautolysaten auftretenden Reaktionen wurden schon früher von anderen mit Erscheinungen der Anaphylaxie in Zusammenhang gebracht. Für mich war es die Veranlassung, diese im Autolysat befindlichen und vielleicht als „affine" zu deutende Stoffe als Vermittler für den nun zu suchenden chemischen Stoff (Medikament) zu wählen. Ich wählte vor allem solche Mittel, welche stark reduzierend wirken. Ich glaubte

nämlich annehmen zu dürfen, daß mittels reduzierender Mittel, welche wir in den Tumor einbringen, das Wachsen der Karzinomzelle, die Entwicklung des Tumors am besten gehemmt und so ein Zerfall der Krebszelle erreicht werden könnte. Nach der vor kurzem von Neuberg und Caspary mitgeteilten Annahme sollen die bei Mäusekarzinomen zur Anwendung gelangten Schwermetalle resp. die organischen Verbindungen derselben durch die Erhöhung der Autolyse im Karzinom wirksam sein.

Nach vielen in dieser Richtung angestellten Versuchen gelangte ich nun (die Versuche wurden früher schon, vor den diesbezüglichen Publikationen der deutschen Autoren ausgeführt) auf das Kupfer und Vanadium. Besonders das letztere schien mir geeignet, um es beim Karzinom zu versuchen. Nach einigen Vorversuchen bei Tieren injizierte ich anfangs Karzinomemulsion mit Vanadium, dann gesondert Karzinomemulsion und gesondert Vanadium, ging dann später auf den Versuch über, erst das Karzinomautolysat einzuspritzen und, nachdem Reaktionen eingetreten waren, nachträglich das Vanadium zu injizieren. Folgende kurze Krankengeschichten zeigen jedoch, daß etwas Besonderes auf diese Weise nicht zu erreichen war.

Auf der Abteilung des Primarius Dr. Farkas wurden 3 Patienten nach diesem letzteren Arbeitsplan, also mit Karzinomemulsion + Vanadium, behandelt.

1. A. Bold. Carcinoma buccae inopl. Wurde 3 mal operiert mit immer folgenden Rezidiven. — Bekommt erst einige Karzinomemulsionen, dann Vanadium injiziert von 5 Milligramm bis 1 Zentigramm. Nach der vierten Injektion wird das Karzinom weich und rot. Patient, der bisher den Mund kaum öffnen konnte und nur flüssige Nahrungen zu sich nahm, kann den Mund wieder öffnen und feste Speisen zu sich nehmen. Leider gesellte sich zum Karzinom ein Erysipel und mußte die weitere Behandlung ausgesetzt werden. Patient ist bald darauf — nach Vernehmen — seinem Leiden erlegen.

2. I. V., Tischler. Carcinoma buccae inopl. Nach der zweiten Injektion, bei welcher 38,9° C. Temperaturerhöhung auftrat, wurde das Karzinom entzündet, rot. Injektionen mit Vanadium. Patient verläßt das Krankenhaus, ohne die Behandlung fortzusetzen.

3. Marie N., 30 J. Carcinoma uteri. Injektionen erregen im Karzinom heftige Schmerzen. Nach jeder Injektion Tem-

peraturerhöhungen. Patientin, bei der unstillbare Blutungen auftraten, bot nach der ersten Injektion noch heftigere Blutungen dar, nach der zweiten Injektion jedoch setzten dieselben eine Zeitlang fast gänzlich aus. Eine Rückentwicklung des Karzinoms konnte jedoch nicht konstatiert werden, und wurde die Kranke immer kachektischer, weshalb die Behandlung ausgesetzt wurde.

In diesem Fall wurden auch erst Injektionen mit Karzinomemulsion subkutan bis 30—40 cm^3 gegeben, dann von einer chlorsauren Vanadiumlösung (in physiol. Kochsalzlösung) von 8 Milligramm bis 1 Zentigramm injiziert. Der Liebenswürdigkeit des Herrn Primarius Priv.-Doz. Dr. Winternitz verdanke ich 3 Fälle, welche ich ebenfalls mit Karzinomemulsion + Vanadium behandelte. Die kurze Krankengeschichte dieser Fälle ist folgende.

1. Michael Kab., 86 Jahre alt. Carcinoma epitheliale in angulo oris. Bekommt erst zwei Injektionen von Karzinomemulsion 10,30 cm^3, dann Karzinomemulsion + Vanadium 8 Milligramm, später 1 Zentigramm. Nach den Injektionen ganz kleine Temperaturerhöhungen, etwas Rötung um das Karzinom. Dasselbe zeigt Neigung zur Regression, wird scheinbar kleiner, doch in der fünften Woche tritt ganz plötzliche Verschlimmerung ein. Das Karzinom zerfällt rapid, verbreitet sich mit vehementer Geschwindigkeit auf die innere Schleimhaut des ganzen Mundes. Nach weiteren 6 Tagen tritt Exitus ein.

2. Alexander En., 63 Jahre alt. Handtellergroßes karzinomatöses Geschwür über den linken Orbita. Behandlung wie oben ca. 5 Wochen lang. Fast ohne Reaktion. Patient wurde dann operativ behandelt.

3. Gisella Bogd., 29 Jahre alt. Lupus faciei et Carcinoma in sulco nasi labial. Karzinom schon viermal operiert worden. Behandlung wie im Falle 1. Anfangs scheint Besserung einzutreten; das Ulcus füllt sich mit neugebildetem Gewebe aus. In der Umgebung des Ulcus ein stärker entzündeter Hof. In der vierten Woche der Behandlung verschlimmert sich der Zustand. Das Ulcus zerfällt mehr und mehr und muß raschestens kauterisiert werden. Behandlung ausgesetzt. Nach 3 Wochen wieder Rezidiv und wird die Behandlung fortgesetzt (mit Cuprum Kalium tartaricum, Cuprum electrocolloid.). Zustand verschlechtert sich. Patientin wird von neuem operativ behandelt. (Ich möchte hier bemerken, daß sich auf diese Behandlung der Lupus zusehends besserte. Es ist evident, daß diese Besserung mit den Cu-Präparaten in Verbindung stand

[Linden, Straußsche Erfahrungen mit Cu-Salzen bei Tuberkulose bzw. Lupus].)

In den angeführten 3 Fällen konnte also in 2 Fällen eine vorübergehende scheinbare Besserung konstatiert werden, doch hielt diese nicht lange an. Ja, es konnte sogar eine rapide Verschlimmerung beobachtet werden. Bei Fall 1 führte die Behandlung schon nach der vierten Woche zu einer rapiden Verschlimmerung. Fall 3 zeigte ebenfalls erst Besserung, doch verschlechterte sich auch hier bald der Zustand und es mußte rasch chirurgisch eingegriffen werden. Fall 2 bot gar keine Veränderungen dar.

In fast allen diesen und den anderen von mir so behandelten Fällen war also eine mit allgemeiner und lokaler Reaktion einhergehende Wirkung der angewendeten Karzinomemulsion + Vanadium zu konstatieren. Die Wirkung ist unzweifelhaft der zur Anwendung gelangten Karzinomemulsion und nicht dem Vanadium zuzuschreiben. Bekanntlich hatten in letzterer Zeit Blumenthal und Lewin bei ihren Tierexperimenten gefunden, daß mittels ziemlich großen Dosen eines zur Anwendung gelangten Tumorautolysats eine Verkleinerung, ja ein vollständiges Verschwinden des Karzinoms bei Mäusen (resp. analoge Versuche bei Rattensarkomen) zu erreichen war. Blumenthal arbeitete mit 1—3tägigen Autolysaten, Lewin mit ähnlichen und auch älteren Autolysaten, die jedoch schwächer zu sein scheinen. Lewin glaubt die Wirkung auf Antikörper beziehen zu können und hält eine Immunisierung mit fremdem Geschwulstmateriale für möglich. Werner und Szécsi fanden, daß besonders das Cholin und die verschiedenen Cholinsalze auf das Karzinom günstig einwirken können, und so glaube ich nun, daß sich vielleicht durch die Autolyse der Karzinomemulsion als Zerfallprodukt des Lecithins Cholin oder ähnliche andere Stoffe (Organfermente) bilden, und scheint es nicht unwahrscheinlich, daß die Wirkung der Karzinomemulsion eigentlich mit dem durch die Autolyse gebildeten Cholin oder ihm nahestehenden, eventuell verwandten Stoffen in Verbindung steht.

Ich möchte noch bemerken, daß die Resultate — wie ich mich davon übrigens auch persönlich überzeugen konnte — mit den Cholinpräparaten in manchen Fällen ganz frappante sind. Freilich läßt sich ein endgültiges Urteil bei der Kürze der Beobachtungszeit noch gar nicht aussprechen. Von den Cuprum-Präparaten habe ich das $CuCl_2$, Cuprum Kalium tartaricum, sowie ein von der Firma Clin et Comp. (Comar) in Paris mir gütigst zur Verfügung

gestelltes Cu-Elektrokolloid angewendet. Meinem Prinzipe gemäß gab ich diese Präparate teils mit Karzinomemulsion, teils suchte ich dieselben mit anderen affinen Stoffen anzuwenden. Durch die Untersuchungen Wassermanns und Keyssers wurde ich auch auf das Selen gelenkt, welches ich ebenfalls in elektrokolloidaler Lösung teils mit Eosin, Methylenblau, dann Karzinomautolysat anwendete. Ich möchte auf die weitere Anführung der Krankengeschichten verzichten und will nur kurz resumieren, daß bei den so auf der Farkasschen wie Herczel' und Winternitzschen Abteilung mit diesen angegebenen Präparaten behandelten Patienten fast absolut nichts zu erreichen war. In einigen Fällen war zwar manchmal eine geringe Regression des Tumors und der Drüsen unleugbar wahrzunehmen; doch hielt dies nicht lange an, und eine Verschlimmerung des Krankheitsprozesses konnte nicht aufgehalten werden. Dasselbe muß vom Kobalt, Selen-Kobalt, Zink, Zinn, Platin gesagt werden. Bekanntlich hatten Neuberg und Caspary mit diesen und anderen Schwermetallen in organischer Verbindung bei Mäusekarzinomen günstige Resultate erzielen können. Es ist möglich, daß diese von den genannten Autoren als „tumoraffine“ Stoffe bezeichneten Schwermetalle durch die Erhöhung der Autolyse wirken, doch kann man dagegen einwenden, daß diese vielleicht eine reduzierende Wirkung ausüben und so ein rascher Zerfall der Karzinomzelle eintritt.

Schließlich möchte ich noch erwähnen, daß ich auch bei Sarkom die oben angeführten Präparate angewendet hatte. Reaktion war auch bei diesen Fällen manchmal zu konstatieren. Die Sarkome wurden weicher, doch bald verschlimmerte sich der Zustand, und die Tumoren wuchsen von neuem. In zwei Fällen (Abteilung Prim. Farkas) wurde außerdem Salvarsan gegen Karzinom angewendet. Das Mittel blieb jedoch erfolglos.

Aus der chirurgischen Universitätspoliklinik zu Würzburg.
(Geh. Rat Prof. Dr. Enderlen.)

Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss des Jodoforms und Jods auf das Blutbild.

Von

Wilhelm Weil, Frankfurt a. M.

Seitdem das Jodoform sich nach mannigfachen Hindernissen den ihm zukommenden Platz in der Medizin erobert hat, sind auch die Meinungsverschiedenheiten über die Art und Weise, wie seine therapeutische Wirkung zustande kommt, bis in unsere Tage in lebhaftem Fluß. Jahrzehnte wogte dieser Streit hin und her, und es war daher nur natürlich, daß, als v. Mosettig und Moorhof, Billroth und Mikulicz gelehrt hatten, bei tuberkulösen Prozessen das Jodoform in öliger Lösung subkutan anzuwenden, die experimentelle Forschung einen breiteren Angriffspunkt hatte, um den Faktoren der Jodoformwirkung auf die Spur zu kommen. Abgesehen von den zahllosen Versuchen über die chemischen Spaltungsprodukte des Jodoforms, über seine Ablagerung im Organismus und seine Arten der Ausscheidung — Dinge, die später noch im einzelnen zu berüchsichtigen sein werden — interessieren hier besonders die histologischen Untersuchungen von Bruns und Nauwerck, die in der mit Jodoform behandelten tuberkulösen Abszeßwand eine starke Leukocyten-Einwanderung als konstantes Merkmal fanden. Die Autoren glaubten damals, der heilende Einfluß der Jodoform-Injektionen beruhe auf der Vernichtung der Tuberkelbazillen in der tuberkulösen Granulationsschicht, eine Ansicht, die allerdings im Widerspruch stand mit den Resultaten der schon vorher angestellten Versuche von Rovsing und Baumgarten; diese hatten festgestellt, daß dem Jodoform nicht einmal eine entwicklungshemmende Eigenschaft gegenüber den Tuberkelbazillen, geschweige denn eine baktericide, zukomme.

Die Forschung auf diesem Gebiete hatte dann lange Zeit keine wesentlichen Fortschritte zu verzeichnen, bis Heile und Joch-

mann 1904 fanden, daß im Eiter von mit Jodoform-Glycerin behandelten kalten Abszessen proteolytische Vorgänge auftreten; sie führten diese und damit die Heilwirkung des Jodoforms auf die Einwanderung von Leukocyten zurück. Die Richtigkeit dieser Erklärung bewiesen sie durch den Nachweis stark vermehrter Purinbasen, durch das Auftreten der Biuretreaktion und durch die Auflösung von Fibrinflocken in dem Abszeßeiter nach der Jodoformierung. Diese Tatsachen wurden dann weiterhin mittels anderer Methoden durch Kolaczek und E. Müller bestätigt und sie dienten diesen Autoren im wesentlichen als Grundlage beim Ausbau ihrer Antifermentbehandlung.

Es muß auffallen, daß, obwohl die Rolle der Leukocyten beim Heilungsprozeß durch Jodoform von Bruns und Nauwerck erkannt und von Heile ins rechte Licht gesetzt worden war, in der Literatur sich nur ganz spärliche Mitteilungen über den Einfluß des Jodoforms auf das kreisende Blut finden. Außer v. Hofer, der schon 1882 nach subkutanen Jodoform-Injektionen bei Kaninchen regelmäßig eine Verminderung der roten Blutkörperchen um mehr als die Hälfte feststellte, berichtete nur Mamel 1892 über eine Leukocytose nach Jodoform, ohne aber diesem Befunde größere Bedeutung beizumessen und seine Untersuchungen weiter zu verfolgen. Außer den Heileschen Untersuchungen schienen aber noch zwei Momente besonders darauf hinzudrängen, die Rolle der Leukocyten des kreisenden Blutes nach der Jodoformierung des Körpers eingehend und systematisch zu untersuchen: einerseits die zum Teil auch auf Experimente gestützte Ansicht vieler Autoren, daß die Jodoformwirkung im wesentlichen als Jodwirkung zu betrachten sei, anderseits aber die schon seit längerer Zeit festgestellte Tatsache, daß das Blut, wenn freies Jod im Organismus kreist, mit einer Lymphocytose reagiert. Letzteres haben nicht nur Caro und Kocher mit ihrer Entdeckung der Lymphocytose bei Morbus Basedowii gelehrt, sondern hat auch Gianasso ausgesprochen, der den guten Erfolg der vielfach in Italien geübten Behandlung der Tuberkulose und Jodjodkalilösung nach Durante durch das Auftreten einer ausgesprochenen Lymphocytose zu erklären suchte. Auch Högyes kommt auf Grund seiner experimentellen Untersuchungen zu dem Schluß, daß nicht nur die lokale Wirkung des Jodoforms als protrahierte Jodwirkung aufzufassen sei, bei welcher das freiwerdende Jod mit dem Albumingehalte der Säfte der Applikationsstelle in Verbindung und ohne lokale Gewebsstörung in

die Zirkulation gerät, sondern daß auch die allgemeine Wirkung im großen und ganzen Jodwirkung sei. Binz hat zwar eine von dem vorigen Autor verschiedene Auffassung der Vorgänge, die sich unter der Jodoformwirkung im Organismus abspielen und glaubt, daß nach einem eigentümlichen Prozesse, den er „Dissoziation“ nennt, und nachdem sich das Jodoform in den Fetten des Körpers gelöst und mit dem Zelleneiweiß verbunden hat, schließlich als Jodmetall im Harn erscheine; aber auch er sieht in den Wirkungen des Jodoforms wesentlich die des Jods. Den Grund, warum das Jodoform meistens günstiger wirkt als das Jod, findet Moleschott darin, daß das Jod aus dem Jodoform ganz allmählich abgespalten werde und so „in statu nascendi“ eine besondere Wirkung entfalte. So einleuchtend aber auch auf den ersten Blick die Annahme der prinzipiellen Gleichheit von Jodoform und Jodwirkung erscheint, so fehlte doch bisher hierfür die experimentelle Grundlage. Es erscheint aber von vornherein klar, daß, wenn sich diese Annahme als richtig erweisen sollte, sich theoretische und praktische Folgerungen daraus ergäben. Einerseits dürfte nämlich dann vielleicht neues Licht auf die Tatsache fallen, daß Personen mit Struma, die nach Ansicht neuerer Autoren einen gesteigerten Jodstoffwechsel haben, höchst selten mit tuberkulösen Prozessen behaftet sind; anderseits aber würde auch der Tuberkulosetherapie ein neues Feld eröffnet werden, indem z. B. die in Italien vielfach angewandte und erfahrungsgemäß gut wirkende Jodjodkalibehandlung mindestens Anspruch auf entsprechende Versuche auch bei uns erwürbe.

So war es eine dankenswerte Anregung von Herrn Professor Dr. Hotz, den Veränderungen zunächst der morphologischen Elemente des Blutes nach subkutanen Jodoformglycerin-Injektionen, wie sie in der chirurgischen Poliklinik und Klinik des Würzburger Juliusspitals vielfach gehandhabt werden, und über deren gute Erfahrungen bei chirurgischer Tuberkulose Koehl in einer aus demselben Institut hervorgegangenen Arbeit demnächst berichten wird, nachzugehen. Es wurde ins Auge gefaßt, die Veränderungen in der Leukocytenzahl und den Arnethschen Blutbildern nach den Injektionen zu verfolgen.

Was die Leukocytenzahl anlangt, so war nach den Untersuchungen Mamels (1892) mit größter Wahrscheinlichkeit eine Steigerung dieser zu erwarten. Diese Wirkung hat das Jodoform gemeinsam mit einer ganzen Reihe anderer Substanzen: so erhielt Holtzmann nach vorhergehender Hypoleukocytose eine Hyper-

leukocytose durch Injektion von Terpentin- und Olivenöl, ebenso wenn er statt Öl Milzbrandkulturen verwandte. Goldscheider und Jakob injizierten Kaninchen Thymus, Milz und Knochenmark, und fanden danach eine Hyperleukocytose mit vorangehender Hypoleukocytose; ebenso nach Hemialbuminose, Nukleïnsäure, Aufschwemmungen von Staphylokokken und Bac. pyogenes; die Hypoleukocytose wurde durch einen Kunstgriff zum Verschwinden gebracht, wenn nämlich kleine Gaben in kurzen Zwischenräumen gegeben wurden. Roncagliolo fand nach subkutaner Einspritzung von Ergotin bei Menschen eine Hyperleukocytose, die 2—3 Stunden nach der Einverleibung am größten war und nach 5 Stunden verschwand; auch hier ging stets eine Hypoleukocytose voraus. Niehues beobachtete bei der von Landerer in die Tuberkulosetherapie eingeführten Zimtsäurebehandlung eine Hyperleukocytose, die etwa 2 Tage lang anhielt. Dunger fand eine Hyperleukocytose nach intravenösen Collargol-Injektionen, Pankow nach Nukleïnsäure, Herzig nach Digalen, Digitonin und Digitoxin, Werner und Lichtenberg nach Cholin-, Kier nach intravenösen Caseïn-Natrium-Injektionen und Plange nach Arsenophenylglycin. Von der Ansicht ausgehend, daß die Erzeugung einer Hyperleukocytose in einem septischen Organismus von förderndem Einfluß auf die Widerstandskraft des Körpers sei, injizierten dann Mikulicz und Myake zu therapeutischen Zwecken die Nukleïnsäure.

Wir haben unsere Versuche zunächst an 6 Hunden, an 2 gesunden und 4 kranken Individuen ausgeführt.

I. Experimenteller Teil.

A. Beobachtungen an Hunden[1]).

Bei dem ersten Hunde, der uns als Versuchsmaterial diente, wurde fehlerhafterweise unterlassen, längere Vorversuche zur Feststellung der normalen Leukocytenzahl anzustellen, wie es später regelmäßig geschah; fehlerhaft war diese Unterlassung deshalb, weil nicht nur die Leukocytenzahlen bei den einzelnen Hunderassen keine Konstanz aufweisen — in der Literatur schwanken die Angaben zwischen 3000 und 30000 im Kubikmillimeter —, sondern weil auch die verschiedensten Einflüsse in ganz verschiedener Weise in den Leukocytenzahlen der einzelnen Tiere zum Ausdruck kommen. So macht z. B. die Nahrungsaufnahme nach 1—2 Stunden eine Hyper-

[1]) Aus raumtechnischen Gründen konnten nur einige Protokolle Platz finden.

leukocytose, deren Höhe in keinem Verhältnis steht zu den Zahlen, wie sie beim Menschen nach der Nahrungsaufnahme bekannt sind. Auch zeigt dasselbe Tier hierin zu verschiedenen Zeiten große quantitative Unterschiede (s. die Kurven u. Protokolle); so z. B. reagierte Hund VI (A) am 7. VIII. auf eine Fütterung nach etwa 2 Stunden mit einer Leukocytensteigerung von 12000 auf 27000, am folgenden Tage war überhaupt keine Reaktion zu konstatieren, und am nächstfolgenden Tage trat wieder Steigerung von 16000 auf 24000 ein in etwa derselben Zeit und nach quantitativ und qualitativ ungefähr gleichen Rationen. Noch größeren Differenzen begegnet man, wenn man die Reaktionen der einzelnen Tiere auf die Fütterungen vergleicht. Es kommt hinzu, daß wahrscheinlich auch das Morphium, das zur Beruhigung bei den Hunden IV (A) und VI (A) im Anfang gegeben wurde, schon eine Leukocytose zu verursachen imstande ist, was mich veranlaßte, den anderen Tieren kein Morphium mehr zu geben. Es ist ferner zu berücksichtigen, daß schon das unvermeidliche Aufspannen der Tiere anormale Zustände der Leukocyten hervorruft, worauf Kier besonders aufmerksam macht. Aschenheim weist darauf hin, daß bei Kaninchen schon durch den Venenstich im Organismus Vorgänge ausgelöst werden, „die mit gewaltsamen Veränderungen der Leukocytenzahl im kreisenden Blute einhergehen“. Ein nicht unbedeutender Faktor der Leukocytensteigerung muß schließlich in dem Heilungsvorgang der, wenn auch nur ganz kleinen, Schnittwunden gesehen werden, die zur Blutentnahme nötig waren, und die der besseren Wundheilung halber bei allen Tieren mit feiner Seide genäht wurden. Die Seide macht, wie aus dem Anhang der Arbeit von Lampé entnommen werden kann, bei Hunden zwar eine Leukocytose, die aber geringer ist als nach Jodkatgutnaht[1]). Nimmt man nun noch dazu den Umstand, daß, wie Ellenberger mitteilt, ein Unterschied in der Leukocytenzahl schon durch den Ort der Blutentnahme bedingt ist, indem sich arterielles und venöses Blut hierin verschieden verhalten, dann verlieren die relativ großen Schwankungen und Steigerungen der Leukocyten vor der Injektion das Auffallende ihrer Erscheinung. Alle genannten Faktoren auszuschalten, erscheint aber bei einer sich auf Tage und Wochen hinziehenden systematischen Blutuntersuchung unmöglich; denn nicht nur ist der Venenstich unvermeidbar, ebensowenig wie das Aufspannen der Tiere, sondern es gelingt

[1]) In späteren Versuchen geschah die Blutentnahme durch einen tiefen Stich mit der Schwertnadel.

auch nicht, mit absoluter Sicherheit immer nur Blut aus einer Hautvene zu bekommen und dabei die kleinen Arterien zu vermeiden. Ein Faktor, und wahrscheinlich der bedeutendste, konnte allerdings dadurch ausgeschaltet werden, daß den Tieren nur abends nach Beendigung der Untersuchungen Futter vorgesetzt und darauf geachtet wurde, daß ihnen nachts keine Gelegenheit zum Fressen gegeben war, so daß am andern Morgen immer an nüchternen Tieren gearbeitet werden konnte. Wo daher auf den Kurven und in den Protokollen kein besonderer Vermerk steht, wurde stets abends das Futter gereicht.

Zu Injektionen bei den Tieren wurde eine 10proz. Jodoform-Glycerin-Lösung verwandt, wie sie allgemein beim Menschen in Anwendung kommt.

Hund IV (s. Protokoll) bekam zuerst 1 ccm subkutan injiziert; danach wurden halbstündlich, dann ein- und mehrstündlich, schließlich täglich Zählungen vorgenommen. Letztere wurden mit dem Original-Thoma-Zeiß-Apparat ausgeführt, und zwar wurden jedesmal mindestens zwei, meistens aber drei und vier Präparate ausgezählt und die Durchschnittswerte dann verwandt.

Schon an demselben Tag stieg bei Hund IV die Leukocytenzahl innerhalb 6½ Stunden in regelmäßigen Stufen von 6000 auf fast 18000. Obwohl anzunehmen ist, daß abgesehen von dem ausnahmsweise angewandten Morphium an dem Leukocytenanstieg auch das Aufspannen und vor allem die Manipulationen bei den stündlichen Blutentnahmen beteiligt sind, so fällt doch sicher der Hauptanteil der Jodoform-Injektion zu. Am folgenden Tag sanken die Werte unter Schwankungen wieder bis auf ca. 10000, um am dritten Tage wieder bis auf 15000 anzusteigen. Unter ziemlich großen Schwankungen erreichten dann die Leukocyten am 7. Tage die Zahl 24000, um am 11. Tage mit 29000 ihren Höhepunkt zu finden. Trotz der Schwankungen zeigt die Kurve vom 1. bis 11. Tage eine unverkennbare Tendenz zum Anstieg, von da ab ebenso unverkennbar zum Abstieg. Es verdient auch hier nochmals hervorgehoben zu werden und gilt auch für alle späteren Tierversuche, daß mit der Zahl der einzelnen Untersuchungen auch der Faktor, der in der Wundheilung der Hautschnittchen erblickt werden muß, beim Anstieg der Leukocytenkurve eine sich steigernde Rolle spielt; es scheint das auch eine Erklärung dafür abzugeben, daß die Leukocyten nur relativ selten auf oder unter die bei der allerersten Untersuchung gefundenen Werte heruntersinken. Daß aber immerhin

dieser Faktor im Vergleich zu der Jodoformwirkung unbedeutend ist, geht deutlich aus den späteren mehrtägigen Vorversuchen an den anderen Hunden hervor.

Die Tiere zeigten sich während der Versuchstage fast durchweg munter, nur Hund VIII litt einige Tage sehr unter starkem Durchfall, der auch nach Opiumdarreichung anhielt und das Tier sehr

A. IV. Hund. ♀ Weißer Pinscher.

Datum		absol. Zahlen der		%-Zahlen der					Bemerkungen
Tag	Tageszeit	Leukocyten	Lymphocyten	neutroph. Leukoc.	mononukl. Leukoc.	Lymphocyten	Mastzellen	Eosinoph.	
24. VII.	8^{15}	6000	—	—	—	—	—	—	8^{10} 0,02 g Morphium
	9^{05}	7600	2530	61.5	2.5	33.5	—	2,5	subk. 8^{30} Injekt. von
	9^{45}	10000	3700	58.5	3,0	37,0	0.5	1.0	1 ccm 10%ig. Jodo-
	10^{20}	11800	3953	63,0	2,0	33,5	—	1,5	formglyzerin subkut.
	11^{00}	13650	3277	73.9	2,0	24,1	—	—	am 24. VII. Nah-
	12^{10}	12500	2963	72,0	3,0	24.5	—	0,5	rungsaufnahme ver-
	2^{00}	13200	3422	71,5	2,5	26,0	—	—	weigert.
	3^{00}	17800	—	—	—	—	—	—	
	5^{00}	14000	3058	76,0	2,3	21,7	—	—	
25. VII.	8^{15}	10600	2703	71,5	2,0	25,5	0,5	1.0	am 25. VII. wieder
	11^{00}	12800	4267	63.0	1,0	33,0	1,0	2,0	Nahrungsaufnahme.
	3^{00}	10200	4549	52,3	0,7	44,6	0,3	2,0	
	6^{00}	12000	4680	60,0	0,3	39.0	0,3	0,3	
26. VII.	11^{45}	13200	4052	67,0	0,7	30,7	0,7	1,0	
	6^{00}	15200	5472	55,5	4.5	36,0	1,5	2,5	
27. VII.	11^{30}	12000	4440	57,0	4,0	37,5	—	1,5	
	4^{45}	16000	7360	50,0	4,5	46.0	—	—	um 3^{30} reichliche
28. VII.	8^{30}	18000	6480	56,8	3,6	36.0	0.8	2.8	Fütterung.
	3^{10}	16000	5330	63,5	2,0	33,5	—	2.0	1 Normoblast!
29. VII.	8^{30}	18400	4471	73,7	2,0	24,3	—	—	vor der Zählung
30. VII.	12^{00}	24000	6432	70,0	3,2	26.8	—	—	wurde gefüttert.
31. VII.	11^{00}	20000	4500	74,5	2,5	22,5	—	0,5	
1. VIII.	9^{30}	18700	3366	76,8	5,2	18,0	—	—	
2. VIII.	10^{00}	22800	6452	64,0	7,7	28.3	—	—	mehr. Normoblasten.
3. VIII.	11^{30}	29000	8903	60,75	5,5	30,75	—	1,0	sehr zahlr. „
4. VIII.	9^{15}	28000	10528	58,2	4.2	37,6	—	—	minder zahlr. „
6. VIII.	8^{30}	22000	6490	63.5	5,0	29,5	—	—	keine Normobl. mehr.
7. VIII.	11^{00}	13000	4615	61,5	3,0	35.5	—	—	mehrere Normobl.
8. VIII.	11^{00}	16500	4785	68,5	2,5	29,0	—	—	

herunterbrachte. Von einer narkotischen Wirkung des Jodoforms war trotz der zum Teil beträchtlichen Dosen — Hund VI z. B. erhielt 17 ccm innerhalb 14 Tagen — nichts zu bemerken. Auch sonstige Intoxikationserscheinungen fielen nicht auf; die Tiere waren und blieben stets ruhig und willig. Die Temperaturen boten

keine eindeutigen und verwertbaren Resultate und blieben deshalb unberücksichtigt.

Eine lange Versuchsreihe, die sich auf einen ganzen Monat erstreckte, konnte mit Hund VI (A) angestellt werden; die Vorversuche und ihre Schwankungen sind bereits beleuchtet worden. Nach einer subkutanen Injektion von 3 ccm Jodoform-Glycerin stiegen die Leukocyten in 6 Stunden von 16000 auf 27000, an den beiden folgenden Tagen bis auf 29000; am 4. Tage erfolgte eine abermalige subkutane Injektion von 3 ccm, darauf innerhalb 6 Stunden prompter Anstieg von 24000 auf 37500. Am übernächsten Tage Injektion von 5 ccm Jodoform-Glycerin; darauf erfolgte, allerdings nicht ganz ohne Schwankungen, ein allmählicher sehr bedeutender Anstieg, der am 4. Tage die Zahl 59000 erreichte; eine nochmalige Injektion von 3 ccm vermochte die Leukocytenzahl zunächst nicht mehr weiter zu steigern, dagegen erfolgte 4 Tage später auf eine Injektion von 3 ccm am 3. Tage eine Leukocytose bis zu fast 70000. Weitere Injektionen wurden unterlassen. Unter Schwankungen erfolgte dann in 7 Tagen Abfall bis fast zur Norm.

Die Leukocytose wurde auch an den weiteren vier Hunden (VIII, IX, XV, XVI, s. Protokoll), die mit Jodoform-Glycerin injiziert wurden, beobachtet; merkwürdigerweise erfolgte bei zwei Hunden die Reaktion erst auf die intramuskuläre Applikation, während die subkutane erfolglos blieb. Eine Erklärung dafür mag der Befund bei Hund VIII geben, bei dem einige Tage nach der ersten subkutanen Injektion die Haut über der Injektionsstelle platzte und das Jodoform als hellgelbe bröckelige Masse frei zutage treten ließ. Es darf wohl mit größter Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß auch in den anderen Fällen die Ursache für die mangelhafte Resorption und das Ausbleiben der Reaktion in einer lokalen Gewebsnekrose zu suchen ist; daß trotzdem ein kleiner Teil des Jodoforms in den Organismus gelangt sein mußte, geht aus den Resultaten der Arnethschen Blutbildern hervor, auf die später noch einzugehen ist. Die, durch Cumulation oft sehr bedeutende, Leukocytose wurde bei fast allen Versuchstieren, sei es nach subkutaner oder intramuskulärer Applikation, beobachtet. Sie trat oft sofort, hier und da auch erst nach einigen Tagen auf, hielt unter Schwankungen bis über acht Tage an oder steigerte sich sogar noch, um dann allmählich wieder abzusinken. Es muß dabei darauf verzichtet werden, für alle Unterschiede in dem zeitlichen Eintritt der Re-

aktion, ihrer Höhe usw. eine Erklärung geben zu wollen; sie mögen auf Momenten beruhen, die beim Tier unkontrollierbar sind.

Der sehr plötzliche, auffallende Anstieg der Leukocyten bei Hund VIII von ca. 20000 auf über 50000 könnte vielleicht dazu verleiten, ihn als Folge der etwa fünfmarkstückgroßen Hautnekrose zu betrachten. Obwohl das mit absoluter Sicherheit nicht aus-

B. VIII. Hund. ♂

Datum		absol. Zahlen der		%-Zahlen der					
Tag	Tageszeit	Leukocyten	Lymphocyten	neutroph. Leukoc.	mononukl. Leukoc.	Lymphocyten	Mastzellen	Eosinoph.	Bemerkungen
1. XI.	10^{45}	17000	2210	83.5	0,5	13,0	—	3,0	
	5^{00}	15500	2170	78,0	2,5	14,0	—	5,5	
2. XI.	10^{15}	28000	3500	79,5	2,5	12,5	—	5.5	10^{20} 2 × 0,5 ccm
	12^{15}	24800	1488	90,0	1,0	6.0	—	3,0	Jodtinktur subkutan.
	4^{30}	27200	1224	89.5	0.5	4.5	—	5.0	
	7^{30}	26500	1590	90.5	—	6.0	—	3.5	
3. XI.	9^{45}	19200	4416	73,0	1.0	23.0	—	3,0	
	2^{15}	15000	3375	73.0	—	22,5	—	4,5	
4. XI.	8^{45}	—	—	68.5	1,0	23,0	—	7,5	
	3^{30}	—	—	62,5	—	24.5	—	13.5	
5. XI.	11^{15}	12200	2864	69,5	2,5	22,0	0,5?	5.5	11^{30} 2 × 0.5 ccm
	3^{15}	14300	2574	79,5	1,5	18,0	—	1.0	Jodtinktur subkutan.
6. XI.	10^{30}	16800	2772	74,5	2,0	16,5	—	7,0	
	3^{45}	13200	3168	64.0	0.5	24,0	—	11,5	
7. XI.	9^{30}	11800	3009	68,5	1,0	25.5	—	5.0	
	4^{30}	11000	1705	66.5	1,0	15.5	—	17,0	
8. XI.	10^{30}	12000	3240	64,5	1.0	27.0	—	7.5	
9. XI.	11^{15}	14800	3404	72.0	1,0	23,0	—	4,0	
10. XI.	10^{45}	16000	2560	78,5	1,0	16.0	—	4,5	
11. XI.	8^{30}	—	—	77,0	1.0	14.0	—	8,0	
12. XI.	3^{00}	20400	2244	84,0	—	11,0	—	5.0	

zuschließen ist, so ist doch wohl in Anbetracht dessen, daß die Nekrose nicht weiterschritt und daß die Hautwunde nicht sezernierte, daß das Tier sonst wohl und freßlustig war, die Annahme berechtigt, daß der Hauptanteil an dem Leukocytenanstieg der erneuten Injektion zuzuschreiben ist, zumal die Nekrose schon längere Zeit vorher bestanden hatte, ohne daß eine Vermehrung der weißen Blutkörperchen auftrat.

Es verdient hier bemerkt zu werden, daß die angeführten Resultate in schroffem Gegensatz stehen zu denjenigen, von welchen Paul Mulzer berichtet; dieser Autor fand, daß die weißen Blutkörperchen nach Jodoform anfangs vermehrt, später aber vermindert

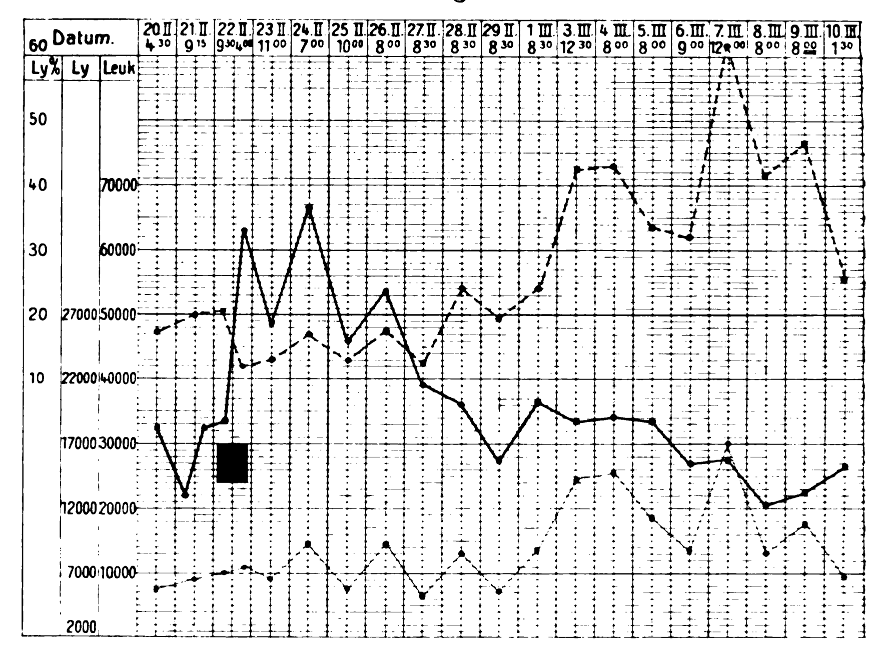
werden. Zwei Punkte erscheinen in der Mulzerschen Arbeit auffällig: 1. wurden die Untersuchungen der Leukocytenzahlen im ganzen nur zweimal und zwar nur am Tage der Applikation angestellt; wie gezeigt, finden aber Leukocytensteigerungen bis zum 8. Tage und noch länger statt. 2. aber hat Mulzer keine methodischen Zählungen in der Zählkammer vorgenommen, sondern auf eine Vermehrung bzw. Verminderung der Leukocyten aus Blutausstrichen schätzungsweise geschlossen; unsere fortgesetzten methodischen Zählungen in der Kammer und an Ausstrichen zeigen, daß eine spezifische Blutreaktion erst nach mehreren Tagen einsetzt. In diesem Sinne dürfen wohl die Zählungen Mulzers berichtigt werden.

Um die von vielen Autoren vermutete Identität der Jodoform- und Jodwirkung zu prüfen, wurden dann ferner dem Hunde X 3 ccm Jodtinktur subkutan injiziert. Diese Dosis war allerdings, auf eine Stelle appliziert, viel zu hoch, wie die an der Injektionsstelle nach drei Tagen entstandene breite, bis auf die Muskulatur gehende Hautnekrose lehrte. Auf die Injektion erfolgte eine deutliche Steigerung der Leukocyten; jedoch war die Steigerung im Verhältnis zu der hohen Joddosis nicht so bedeutend wie nach Jodoform; auch sanken die Werte schon nach sieben Tagen wieder zur Norm ab; auf eine am 7. Tage gegebene kleinere Dosis (0,5 ccm) erfolgte nur ein geringer Anstieg. Ein zweiter Versuch dieser Art wurde mit Hund VIII (B) angestellt, der schon früher zu den Jodoformversuchen gedient und gut reagiert hatte. Zwei Monate nach jenen Versuchen waren sowohl Leukocytenzahlen als auch Arnethsches Blutbild wieder normal, die Jodoformreaktion konnte also als abgelaufen gelten. Auf eine nunmehr injizierte zweimalige Dosis Jodtinktur (s. S. 444) von je 1 ccm — um Nekrose zu verhüten, wurden jedesmal je 0,5 ccm an zwei Hautstellen appliziert — erfolgte das erstemal nicht nur keine Leukocytose, sondern eher eine Verminderung der Leukocyten, das zweitemal war die Leukocytose ganz unbedeutend. Die Arnethschen Blutbilder jedoch boten die typische Jodoformreaktion, wie später noch zu zeigen ist.

Eine Zusammenfassung der Resultate der Leukocytenzählungen führt zu folgendem Schlusse:

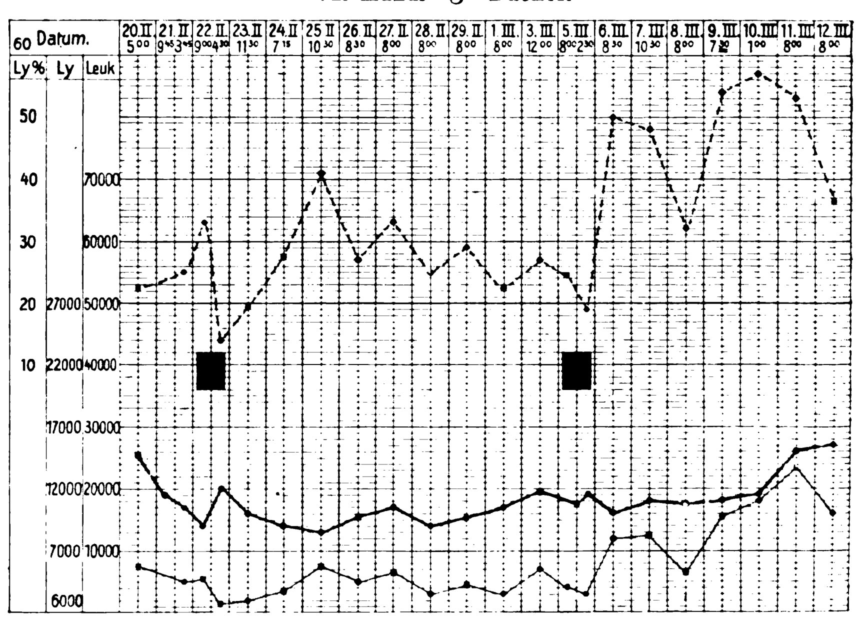
Die Jodoform-Injektion bedingt beim Hunde eine mitunter beträchtliche Leukocytose, die sich in hohem Maße cumulieren läßt. Sie beginnt oft erst nach mehreren Tagen und hält dann lange an, zum Unterschied von vielen

XV. Hund. ♂ Pinscher.



■ = 9[35] intramuskuläre Injektion von 5 ccm Jodof.-Glycerin.

XVI. Hund. ♂ Dackel.



■ = 9[30] Injektion von 5 ccm Jodof.-Glycerin intramuskulär.

■ = 9 Injektion von 6 ccm Jodof.-Glycerin muskulär.

anderen Leukocytose-erregenden Mitteln, die meistens nur eine kurzdauernde und lange nicht so beträchtliche Steigerung verursachen; auch fehlt nach Jodoform die sonst der Hyperleukocytose vorausgehende Hypoleukocytose. Die reine Jodtinktur zeigt diese Reaktion weniger deutlich als das Jodoform.

Die zweite Aufgabe war die Beobachtung der Arnethschen Blutbilder nach den Injektionen. Es wurden jedesmal zwei Ausstriche auf Objektträgern angefertigt und mit der May-Grünwaldlösung gefärbt; hier und da wurde zur Kontrolle auch Giemsafärbung angewandt; die beiden Methoden ergaben bei der Auszählung dieselben Resultate. Es wurden in der Regel auf jedem der beiden Objektträger-Präparate 100 Leukocyten differenziert, im ganzen also jedesmal 200. In Anbetracht der großen Ausdehnung der Versuche war schon aus äußeren Gründen eine Beschränkung auf diese Zahl angezeigt. Den Verhältniszahlen der einzelnen Leukocytenarten kommt bei den Tieren allerdings keine solche Konstanz wie beim Menschen zu, zeigen doch die Tiere schon vor der Injektion nicht unbedeutende Differenzen. Daß aber trotzdem eindeutige Resultate erzielt wurden, lehrt ein Blick auf die Kurven, die alle im Prinzip dasselbe Resultat aufweisen.

Es wurden in den Kurven nur die Prozentzahlen der Lymphocyten und ihre daraus zu berechnenden absoluten Zahlen zur Darstellung gebracht. Die Verhältnisse der Polymorphkernigen zeigen hierzu ein ziemlich genaues Spiegelbild, wie die eine im Falle Lotte H. (s. S. 431) dargestellte Kurve lehrt. Die übrigen Formen der Leukocyten blieben im wesentlichen unverändert. Somit glaubten wir, uns auf die Darstellung der einen wesentlichen Gruppe beschränken zu dürfen.[1])

[1]) Zur besseren Darstellung des Gesamtverlaufes wurden einzelne Beobachtungsreihen in Kurvenform dargestellt; für sie gelten folgende Zeichen: die oberste Kurve, die der Prozentzahlen der Lymphocyten, zeigt • - - - - - - - - - • Linien.

Die mittlere Kurve, die der absoluten Leukocytenzahl zeigt •━━━━━━━━• Linien.

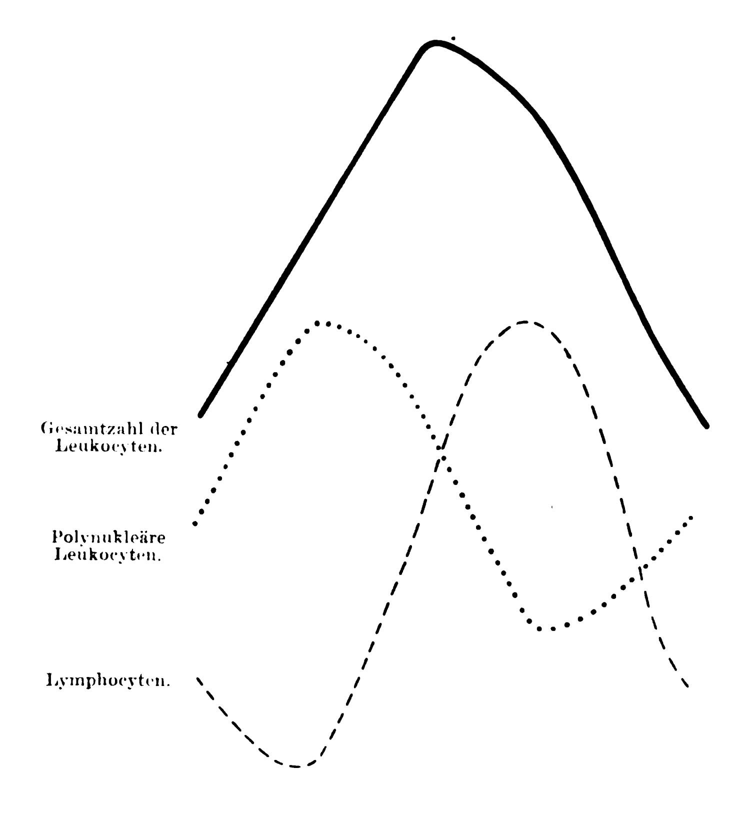
Die unterste Kurve, die der absoluten Lymphocytenzahl zeigt •————————• Linien.

Die Zahlenwerte seitlich bedeuten: Leuk = absolute Leukocytenzahl.

Ly = absolute Lymphocytenzahl, Ly % = Prozentzahl der Lymphocyten.

Aus rein technischen Gründen konnte die Einheitlichkeit des Maßstabs nicht immer gewahrt werden.

Ein Vergleich der Leukocytenkurven, wie die Kurve der absoluten Leukocytenzahl von jetzt an kurzweg genannt werden soll, mit den beiden Lymphocytenkurven ergibt, daß im allgemeinen ein Parallelismus nicht vorhanden ist und daß sie in ungesetzmäßiger Weise nebeneinander herlaufen. Im Beginne, nach der Injektion, zeigt sich ganz regelmäßig eine Verminderung der Lymphocyten — durch die gleichzeitig vermehrte Leukocytose oft nur relativer Art —, oder, was dasselbe bedeutet, eine Ver-



mehrung der Polymorphkernigen. Selbst in dem Fall von Hund VIII (A), der auf die ersten Jodoform-Injektionen keine deutliche Leukocytose zeigte, war trotzdem das typische Absinken der Lymphocyten im Verhältnis der Polymorphkernigen nachweisbar. Schon dieser eine Fall zeigt, daß die Verhältniszahlen der beiden Hauptgruppen der weißen Blutkörperchen unabhängig sind von dem Grade der Leukocytose überhaupt; während im allgemeinen die Regel gilt, daß beim Anstieg der Leukocyten die Vermehrung der Polymorph-

kernigen überwiegt, sehen wir, daß nach Jodoform-Injektionen die Polynukleären in den ersten Tagen vermehrt sind, daß jedoch die anfänglich verminderten Lymphocyten eine bedeutende Steigerung erfahren. Diese Lymphocytose bildet das wesentliche Merkmal der ganzen Jodoform-Reaktion und dürfte nach unserer Vermutung, wie im theoretischen Teil noch zu zeigen sein wird, einen hauptsächlichen therapeutischen Faktor der Jodoformwirkung darstellen.

Die drei Kurven der absoluten Leukocytenzahl, der Polynukleären und der Lymphocyten, würden sich also, wenn man von den Schwankungen absieht, im großen und ganzen in nebenstehendem Schema (S. 424) veranschaulichen lassen.

Eine experimentelle Lymphocytose ist außer nach Jod nur bekannt nach Pilocarpin-Injektionen, von denen M. Gasis berichtet, und in einzelnen Fällen nach therapeutischen Arsendosen, die Schwaer mitteilt. Identisch mit der Jodoform-Reaktion scheint die nach Jodkali zu sein; wenigstens hat erst in jüngster Zeit Klose über derartige Versuche berichtet, in denen er zuerst eine Verminderung, dann Vermehrung der Lymphocyten fand.

B. Beobachtungen an Menschen.

1. ohne manifeste Tuberkulose.

Es mußte, nachdem die Tierversuche stets das prinzipielle gleiche Resultat ergeben hatten, die Frage interessieren, ob auch im menschlichen Blute die gleichen Veränderungen nach Jodoform nachzuweisen seien. An Gesunden derartige Untersuchungsreihen anzustellen, schien deshalb mit Schwierigkeiten verbunden zu sein, weil zu der schmerzhaften Prozedur und den mehrmaligen täglichen Blutentnahmen sich nicht leicht ein Unbeteiligter verstanden hätte. Ich ließ mir deshalb 5 ccm Jodoform-Glycerin subkutan in die Brust injizieren; auch Herr Medizinalpraktikant K. stellte sich bereitwilligst mir zu einer Injektion (3 ccm) zur Verfügung. Weder K. noch ich zeigten damals irgendwelche Symptome von Tuberkulose, auch früher waren solche nicht aufgetreten.

Die Injektionen wurden von uns beiden übereinstimmend als äußerst schmerzhaft empfunden, und die Abneigung der meisten Patienten gegen die Wiederholung der Injektion erscheint danach begreiflich. Als relativ am wenigsten schmerzhaft und hinderlich

wird von den Patienten meistens die Injektion in die submammäre Haut bezeichnet.

Die Kontrolle unseres Körpergewichtes wurde nicht ausgeführt: aber auch ohne Wägung konnten wir an uns selbst feststellen, daß wir nach Beendigung der Versuche abgemagert waren; gegenüber einem schon längere Zeit vor der Injektion festgestellten Körper-

Versuche mit Jodoform-Glycerin.

β) an Menschen.

1. ohne manifeste Tuberkulose.

K., Medizinalpraktikant.

Datum		absol. Zahlen der		%-Zahlen der					
Tag	Tageszeit	Leukocyten	Lymphocyten	neutroph. Leukoc.	mononukl. Leukoc.	Lymphocyten	Mastzellen	Eosinoph.	Bemerkungen
14. VIII.	8^{30}	8000	—	—	—	—	—	—	9^{10} 3 ccm Jodoform-Glyzerin subkutan.
	11^{10}	15800	5688	60.0	2,0	36,0	—	2,0	
	1^{10}	7500?	2500	66,2	0,8	33.0	—	—	
	3^{20}	8000	2400	69,1	—	30,0	—	1,0	
	5^{30}	9200	3266	58,5	0,5	35,5	0,5	5.0	
15. VIII.	9^{45}	10600	3604	59.5	0.5	34.0	0,5	5,5	
	4^{15}	13800	3450	72,5	0,0	25,0	0.5	2.0	
16. VIII.	8^{30}	11600	—	—	—	—	—	—	
	11^{10}	10800	2862	70,0	—	26,5	0,5	3.0	
	5^{30}	12600	2835	72.5	—	22,5	2,0	4,5	
17. VIII.	9^{00}	10600	2724	67,0	0,7	25,7	—	6,6	
	4^{15}	10200	2550	70,0	1,5	25.0	—	3,5	
18. VIII.	8^{45}	8600	2150	69,0	1,5	25,0	0,5	4,0	
	10^{30}	8000	—	—	—	—	—	—	
	—	—	—	—	—	—	—	—	
21. VIII.	10^{15}	8800	2754	58,0	3,0	31.3	1,0	0,7	
	12^{15}	10000	4400	47.0	1,5	44.0	0,5	7,0	
	6^{30}	11000	—	—	—	—	—	—	
22. VIII.	11^{30}	10200	3723	57,0	2,5	36.5	0.5	3,5	
	6^{45}	9000	4005	50,0	—	44,5	0,5	5,0	
23. VIII.	11^{00}	7000	2975	51,5	1,0	42,5	—	5,0	
	6^{00}	7200	3132	48,0	0.5	43.5	—	8,0	
24. VIII.	10^{15}	6200	2728	49,5	1,0	44,0	—	5,5	
	3^{45}	8200	2870	59,0	—	35,0	1,0	5,0	
26. VIII.	6^{00}	9200	3588	56,5	1,5	39,0	—	3,0	
27. VIII.	11^{30}	9000	3330	57,0	1,0	37,0	—	5,0	
28. VIII.	10^{30}	7800	2847	57.5	1.0	36,5	1,5	3.5	
29. VIII.	5^{45}	9500	2850	63.0	1,0	30,0	1,0	5.0	
30. VIII.	11^{00}	8200	3198	54,0	1.0	39,0	—	6.0	
31. VIII.	12^{15}	10000	4500	48.0	1.0	45,0	0.5	5,5	
	7^{00}	10800	4104	54,5	2,0	38,0	0,5	5.0	
1. IX.	12^{15}	9800	3920	53,0	—	40,0	1,5	5,5	
	—	—	—	—	—	—	—	—	
4. IX.	10^{00}	11800	4838	51,0	1,0	41,0	—	7.0	
5. IX.	11^{00}	8500	4080	47,5	1.0	48.0	—	3.5	

gewicht hatte ich ca. 5 kg abgenommen. Dabei fühlten wir beide, K. und ich, uns während der ganzen Zeit wohl und beschwerdefrei; Jod konnte nach zwei Monaten im Harn nicht mehr nachgewiesen werden, obwohl an der Injektionsstelle noch lange nachher ein haselnußgroßer derber Tumor zu fühlen war.

Bei der Untersuchung der Blutbilder überraschte es zunächst, daß schon vor der Injektion bei K. und mir eine ausgesprochene Lymphocytose von 30—40 % zu konstatieren war; wie sich später auf Grund von Experimenten, die noch zu besprechen sind, ergab, kann diese Erscheinung mit Sicherheit auf das Jod zurückgeführt werden, mit dem wir täglich reichlich in Berührung kamen.

Es möge ausdrücklich betont werden, daß das Blut für die Ausstriche durch einen tiefen Lanzettstich entweder aus der Fingerkuppe oder aus dem Ohrläppchen genommen und besonders darauf geachtet wurde, daß nicht etwa durch Auspressen des Blutstropfens eine künstliche Lymphocytose erzeugt wurde.

Nach der Injektion zeigte sich bei K. (s. S. 426) in ganz typischer Weise, wie im Tierversuch, zunächst drei Tage lang, ein Absinken der Lymphocytenzahlen, dann folgte wieder Anstieg bis über die anfänglichen Werte hinaus; Schwankungen waren aber auch hier zu verzeichnen. Aus äußeren Gründen und weil damals die schon bestehende Lymphocytose doch keine verwertbare Grundlage zur Beobachtung abzugeben schien, wurden die Arnethschen Blutbilder an mir selbst nicht systematisch ausgezählt, so daß diesbezügliche Zahlen fehlen; allein eine Stichprobe 10 Stunden nach der Injektion zeigte, daß die Lymphocyten im Absinken begriffen waren. Auch die Leukocytose nach der Injektion entsprach in beiden Versuchen dem Bilde, das am Tiere beobachtet worden war, nur daß die Werte sich in relativ niedereren Grenzen bewegten. Auch hier ist in der Zahl trotz der Schwankungen zunächst die Tendenz zum Anstieg ebenso unverkennbar wie später zum Absinken der Leukocytenzahlen.

2. mit manifester Tuberkulose.

Es erschien nicht ohne weiteres selbstverständlich, wenn auch wahrscheinlich, daß der kranke, mit Tuberkulose behaftete Organismus in ganz derselben Weise reagieren würde wie der gesunde. Die diesbezüglichen Untersuchungen wurden an vier Patienten des Juliusspitals, für deren Überlassung ich Herrn Geh. Rat Prof.

Dr. Enderlen zu besonderem Danke verpflichtet bin, vorgenommen. Bei den betr. Patienten war eine Injektion zu therapeutischen Zwecken ohnehin indiziert, wie aus den Krankengeschichten hervorgeht (s. dazu die betr. Kurven und Protokolle):

Babette H., 18 J.

Sehnenscheiden- und Fußgelenktuberkulose, tuberkul. Abszeß der rechten Ulna.

Datum		absol. Zahlen der		%-Zahlen der					
Tag	Tageszeit	Leukocyten	Lymphocyten	neutroph. Leukoc.	mononukl. Leukoc.	Lymphocyten	Mastzellen	Eosinoph.	Bemerkungen
28. VIII.	10^{00}	11500	3105	69,0	1,0	27,0	0,5	2,5	
	6^{00}	10800	—	—	—	—	—	—	$^3/_4$ st. Röntgenbestr.
29. VIII.	11^{25}	11800	3268	67,3	2,0	27,7	—	3,0	11^{30} 5 ccm Jodoform-
	6^{00}	13000	—	—	—	—	—	—	Glyzerin subkutan.
30. VIII.	10^{00}	14200	2911	75,0	1,5	20,5	0,5	2,5	
	6^{00}	14000	3150	72,0	2,5	22,5	—	3,0	
31. VIII.	10^{00}	14200	3805	70,2	1,0	26,8	0,5	1,5	
	6^{00}	11600	3248	68,0	1,0	28,0	0,5	2,5	
1. IX.	10^{00}	12800	3456	66,0	1,0	27,0	—	6,0	
	6^{00}	10000	2700	70,5	1,0	27,0	—	6,5	
2. IX.	4^{45}	10000	2300	74,5	1,0	23,0	—	1,5	
3. IX.	10^{00}	14800	5032	61,5	1,0	34,0	—	3,5	
	6^{00}	15900	5168	61,5	2,5	32,5	0,5	3,0	
4. IX.	10^{00}	12600	4498	59,7	1,0	35,7	—	3,6	
	6^{00}	14600	4380	66,5	—	30,0	—	3,5	
5. IX.	10^{00}	12500	4625	59,0	0,5	37,0	—	3,5	
	6^{00}	15000	5325	60,5	1,5	35,6	—	2,5	
6. IX.	10^{00}	12000	3900	64,0	—	32,5	—	3,5	
	6^{00}	14600	4015	69,0	—	27,5	—	3,0	
7. IX.	10^{00}	11400	3591	62,5	1,0	31,5	1,5	3,5	
	6^{00}	12000	3060	66,5	2,5	25,5	—	2,5	
8. IX.	8^{30}	11000	2485	71,0	1,0	23,5	1,0	3,5	

1. Babette H., 19 J., angeblich früher stets gesund, erkrankt seit April 1911. Diagnose: Sehnenscheiden- und Fußwurzeltuberkulose rechts mit Fistelbildung, tuberkulöser Abszeß der rechten Ulna.

Operation am 6. V. 11.: Excision der Granulationsmasse, Resektion des Cuneiforme, und des vorderen Calcaneus. Eröffnung des Abszesses an der Ulna, Ausmeißelung des Knochens.

29. VII.: Jodoformglyzerininjektion (5 ccm) subkutan, submammär, sehr schmerzhaft empfunden (Beobachtung). $^3/_4$ stündige Röntgenbestrahlung.

Mitte August tuberkulöser Abszeß in der Mitte des linken Unterschenkels; Heilung nach dreimaliger Punktion und Füllung mit Jodoformglyzerin.

Später erhielt Patientin im ganzen noch drei Jodoforminjektionen in den Unterarm und drei in den Fuß; anfangs Oktober bedeutende Besserung, dann erneutes Rezidiv.

2. Christine Z., 14 J., früher gesund, erkrankt seit zwei Jahren. Diagnose: Lupus des r. Oberarms, tuberkulöser Abszeß am r. Oberschenkel.

Operation 28. VI. 11.: Excision der Fistel am Oberschenkel, Entfernung eines tuberkulösen Sequesters, Auskratzung des Knochenherdes. Excision des Lupusherdes am r. Oberarm.

29. VIII.: Jodoformglyzerininjektion (3 ccm) subkutan, submammär, ziemlich schmerzhaft empfunden (Beobachtung).

1. IX.: Abermalige Injektion von 2 ccm Jodoformglyzerin (Beobachtung).

Nach noch zweimaliger lokaler Jodoforminjektion konnte Patientin am 9. XI. in ambulante Behandlung entlassen werden.

3. Lotte Hö., 18 J., früher angeblich immer gesund, erkrankt seit Juni 1911 mit Kniegelenkschmerzen links und Schwellung des r. Fußes. Diagnose: Fußgelenktuberkulose r. Plattfußentzündung links.

18. VIII.· Injektion von 5 ccm Jodoformglyzerin ins r. Fußgelenk.

29. VIII.: Injektion von 5 ccm Jodoformglyzerin subkutan, submammär; Patientin empfindet die Injektion kaum schmerzhaft (Beobachtung).

15. IX.: Entlassen im Gipsverband.

4. Therese F., 23 J., vor vier Jahren Resektion des linken tuberkulösen Ellenbogengelenks; verhältnismäßig gute Funktion des Armes.

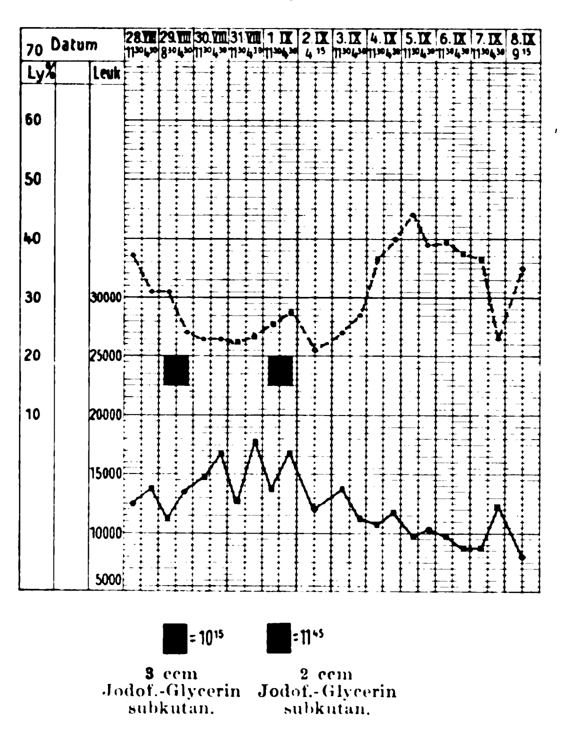
1909 Fistelbildung an der alten Stelle; Auskratzung, Heilung. Seit Dezember 1911 wieder ausgedehnte Fistelbildung und schmerzhafte Schwellung des linken Ellenbogens.

Acht Tage lang feuchte Verbände, dann Injektion von Jodoformglyzerin (dreimal je 5 ccm, einmal 1,5 ccm subkutan). Patientin reagiert auf die Injektionen jedesmal mit Temperatursteigerung (bis zu 39,2°), die meist drei Tage anhielt (Beobachtung). Die letzte Injektion wurde in die Umgebung der Fistel selbst appliziert.

Nach den Injektionen war an dem erkrankten Ellenbogen regelmäßig vermehrte Schmerzhaftigkeit und Schwellung vorhanden.

Bei der Beurteilung der an diesen Patienten gemachten Untersuchungen darf die Hyperleukocytose vor der Injektion nicht wundernehmen, da man dieser Tatsache ja sehr häufig bei Tuberkulose, besonders bei chirurgischer, begegnet, wie alle Autoren bestätigen. Im Falle Hö. kommt noch hinzu, daß die letzte Jodoform-Injektion erst 10 Tage vorausgegangen war, und ihre Wirkungen auf das Blutbild z. Zt. der Voruntersuchung zur folgenden Injektion noch nicht abgelaufen waren. Auch muß bei ihr zweifellos die hohe Lymphocytose schon vor der Injektion auf diese Ursache, wenigstens größtenteils, zurückgeführt werden; aber auch in den Fällen H. und Z. waren vor der Injektion anormal hohe Lymphocytenwerte zu verzeichnen. Die meisten Autoren geben an, daß bei der Tuberkulose eine Hyperleukocytose zugunsten der Poly-

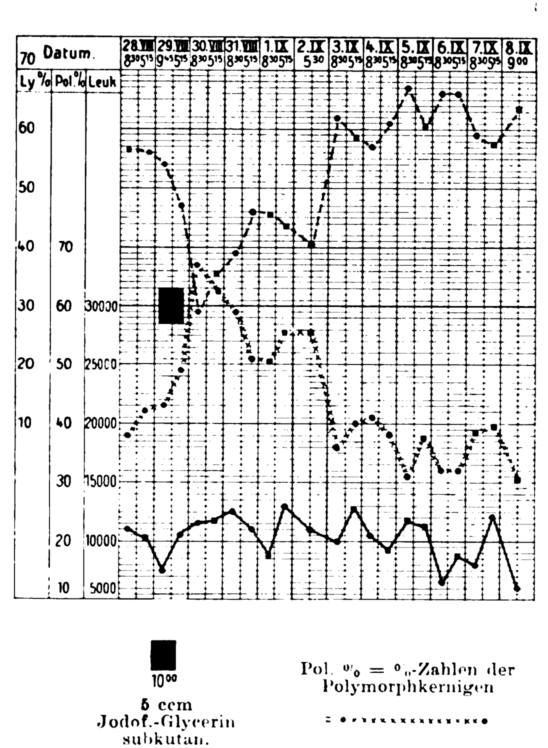
nukleären zu erwarten sei; dem steht allerdings eine Mitteilung von E. Becker entgegen, der bei Skrofulose stets eine Vermehrung der Lymphocyten feststellte und den Grad der Lymphocytose als maßgebend für die Schwere der Skrofulose bezeichnet. Auch Fauconnet hat bei vier perlsüchtigen Kaninchen sehr hohe Lymphocytenwerte — bis zu 43 % — beobachtet, glaubt aber, bei den schwankenden Zahlen keine Schlüsse daraus ziehen zu dürfen;



denn er meint, auf Grund von vier Blutuntersuchungen bei tuberkulösen Prozessen, wo er die Polynukleären stark vermehrt fand, in den Exsudaten dagegen die Lymphocyten, daß die Lymphocytose bei Tuberkulose lokal beschränkt sei. Wir fanden außer in den drei angeführten Fällen — im Falle F. waren die Polynukleären etwas vermehrt — auch in anderen Fällen chirurgischer Tuberkulose sehr häufig erhöhte Lymphocytenwerte. Es muß aber dahingestellt bleiben, ob nicht häufig, wie z. B. im Falle Z., auch auf die Jugend der Patientin die Lymphocytose zurückzuführen ist.

Jedenfalls zeigen auch die Beobachtungen der vier Patienten nach den Injektionen völlige Übereinstimmung mit den am Tiere und am gesunden Menschen gefundenen Resultaten: im Beginn Sinken der Lymphocyten, dann Anstieg über die Anfangswerte hinaus. Das Verhalten der Polynukleären bildet wieder das Spiegelbild zu dem der Lymphocyten. Im Falle Hö. konnte außerdem noch die cumulierende Wirkung von im Zwischenraum mehrerer

Lotte Hö. 18 Jahre.



Tage erfolgten Injektionen dargestellt werden. Im Falle Z., wo schon nach 3 Tagen die Injektion in kleiner Dosis wiederholt wurde, tritt die erwartete Cumulationswirkung nicht so deutlich hervor, wohl zweifellos deshalb, weil, wie erst später das Kurvenbild lehrte, der Höhepunkt der Lymphocytose erst nach 4—8 Tagen erreicht wird.

Im Falle F. wurde erst mit der dritten Injektion ein typisches

Blutbild erreicht, weil der Verlauf der ersten durch Ausspülungen der Fistel mit Jodtinktur u. dergl. von anderer Seite gestört wurde.

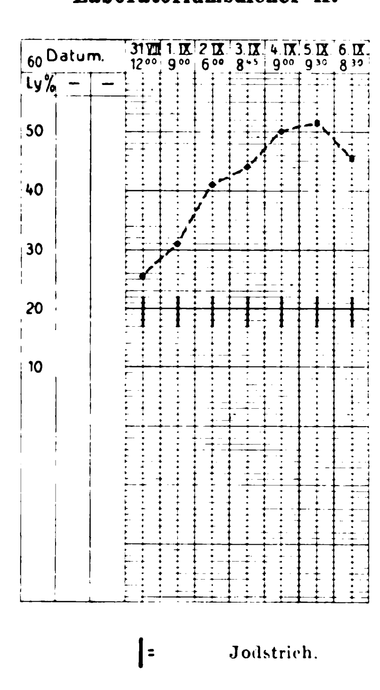
Hatte sich so ergeben, daß das Jod, subkutan appliziert, als Jodoform regelmäßig eine Lymphocytose erzeugt, so konnte der bei Gesunden schon vor der Injektion gemachte zufällige Befund einer bedeutenden Lymphocytose nicht als normal aufgefaßt werden und verlangte Aufklärung, wodurch diese veranlaßt sein könnte. Tuberkulose, Basedow und sonstige Krankheiten konnten nicht in Frage kommen; dagegen wurde ich in der Vermutung, daß hier eine einheitliche Ursache äußeren Ursprungs verantwortlich zu machen sei, bestärkt, als sich bei der Blutuntersuchung des Laboratoriumsdieners H. ebenfalls eine starke Lymphocytose fand; (auch bei den Operationsdienern der chirurgischen Klinik fand sich das Phänomen, während Stichproben an Patienten der Poliklinik normale Resultate ergaben). Hier konnte nur ein Faktor in Frage kommen, das war das Jod, das bei der Tätigkeit in der Poliklinik und auch im Laboratorium nicht nur häufig in direkte Berührung mit den Fingern kommt, sondern das sich vor allem auch in der Luft der Poliklinik, wo alle Desinfektionen mit Jodtinktur vorgenommen werden und wo es auch sonst reichlichst Verwendung findet, ebenso wie in der des Laboratoriums, das gleichzeitig als Tieroperationsraum diente, in bedeutender Menge vorfindet.

Es galt nun, durch Versuche die Vermutung, daß wirklich das Jod die Ursache unserer Lymphocytose war, zu beweisen. Der erste Versuch wurde am Laboratoriumsdiener H. vorgenommen. H. arbeitete in demselben Laboratorium wie ich und hatte bei der ersten Blutuntersuchung eine Lymphocytose von 36 %; dann wurde H. aushilfsweise in der chirurgischen Poliklinik beschäftigt, wo ihm nach seiner eigenen Angabe häufig Jodtinktur über die Finger lief. Eine während dieser Zeit vorgenommene Blutuntersuchung ergab 43 % Lymphocyten. Dann wurde H. wieder nur im Laboratorium beschäftigt, wo nach 5 Tagen eine Lymphocytose von 35 % festgestellt wurde. H. bekam dann seinen Sommerurlaub und erschien nur noch einmal täglich auf einige Minuten im Laboratorium, ausschließlich um die Tiere zu füttern; seinen Urlaub verbrachte er tagsüber hauptsächlich im „Sonnenbad“. 8 Tage nach Beginn seines Urlaubs zeigte das Blutbild wieder normale Lymphocytenwerte; hier setzten nun meine Versuche ein. Ich ließ H. täg-

lich zweimal eine etwa handtellergroße Fläche seines Ober- oder Unterarms mit Tinct. jodi bestreichen und nahm täglich eine Blutuntersuchung vor; wie die Kurve zeigt, ergaben sich 6 Tage lang stetig steigende Lymphocytenzahlen bis zu 52 %; dann sanken die Lymphocyten wieder etwas ab.

Eine lange Versuchsreihe wurde ferner mit der Patientin Katharina B. angestellt, die sich wegen einer Fraktur des Unter-

Laboratoriumsdiener H.

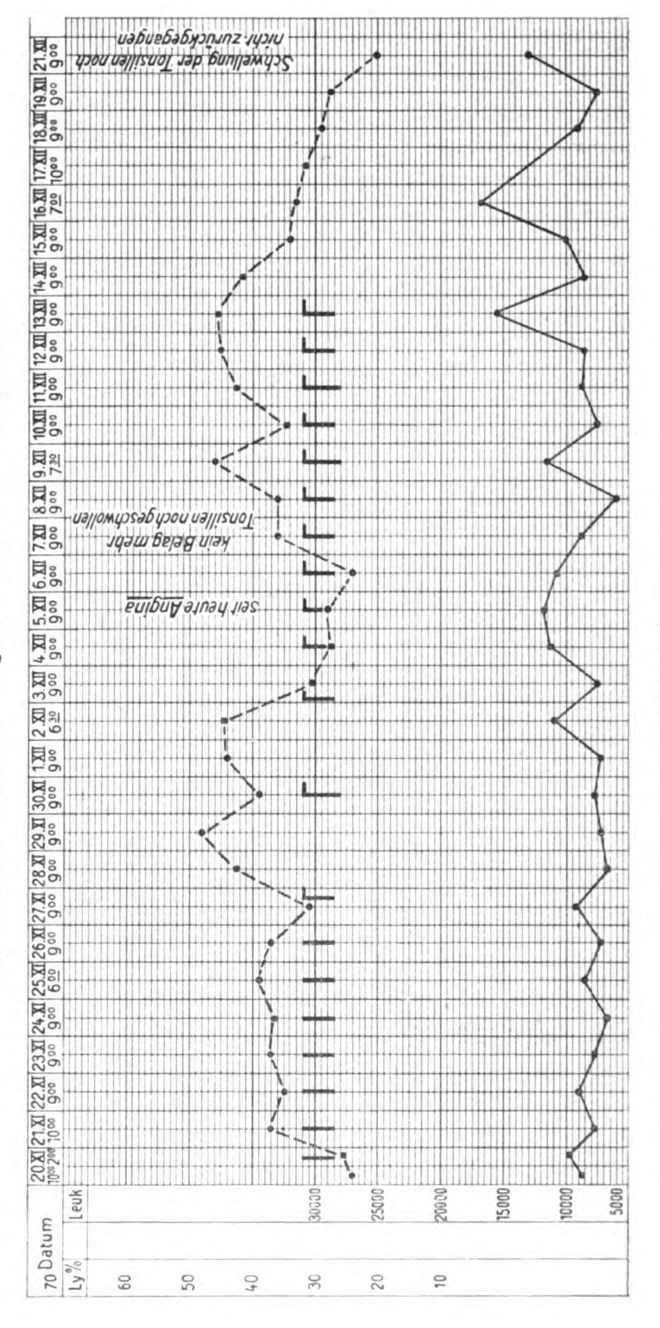


| = Jodstrich.

schenkels im Juliusspital in Behandlung befand; auch bei ihr wurden durch tägliche Jodstriche an den verschiedensten Hautstellen die Lymphocyten (bei Konstanz der absoluten Leukocytenzahl) in langsamem Anstieg bis auf 39 % gebracht und noch höhere Werte, bis zu 48 %, erzielt, als über die bestrichenen Hautstellen regelmäßig ein leichter Gazeverband gelegt wurde. Später stellte sich eine Angina ein, die das Bild natürlich zugunsten der Polymorphkernigen verschob.

Nebenbei sei bemerkt, daß dabei interessanterweise die Patientin mit einer Leukocytose reagierte, bevor die Angina klinisch

Katharine B. 13 Jahre. Diagnose: Fraktur des Unterschenkels.



| " Jodstrich ohne Verband.
⌐ " Jodstrich mit Verband.

festgestellt war; sie wurde erst 1 Tag später entdeckt, als ich, aufmerksam gemacht durch die plötzliche Leukocytensteigerung, den Rachen der Patientin untersuchte.

Katherine B., 13 J.

Diagnose: **Fraktur des Unterschenkels.**

Datum		absol. Zahlen der		%-Zahlen der					Bemerkungen
Tag	Tageszeit	Leuko-cyten	Lympho-cyten	neutroph. Leukoc.	mononukl. Leukoc.	Lympho-cyten	Mastzellen	Eosinoph.	
20. XI.	10^{00}	8800	2112	67,5	0,5	24.0	—	8,0	
	2^{00}	9700	2473	66.5	1,5	25,5	—	6.5	Jodstrich.
21. XI.	10^{00}	7800	2866	55,0	1,0	37,0	1.0	5.5	do.
22. XI.	9^{00}	8800	3080	59,5	1,0	35,0	—	4.5	do.
23. XI.	9^{00}	8000	2960	57,0	1,0	37,0	—	5,0	do.
24. XI.	9^{00}	7000	2520	58,0	1,0	36.0	—	4,5	do.
25. XI.	6^{00}	8200	3198	54.5	1,0	39,0	—	5,5	do.
26. XI.	10^{00}	7500	2775	55,5	1,0	37,0	0,5	6.0	do.
27. XI.	9^{00}	9000	2790	61,5	1,0	31,0	—	6,5	Jodstrich, Verband darüber.
28. XI.	9^{00}	7000	2975	51,5	1.0	42.5	—	5.0	kein Jodstrich.
29. XI.	9^{00}	7000	3260	44,0	1,0	48,0	—	7.0	do.
30. XI.	9^{00}	7600	2964	56,0	0,5	39,0	0,5	4.0	Jodstrich, Verband.
1. XII.	9^{00}	7400	3256	47,5	1,0	44.0	—	7.5	kein Jodstrich.
2. XII.	6^{30}	11000	4895	51,5	0,5	44,5	—	3.5	do.
3. XII.	9^{00}	7600	2318	63,5	1,0	30,5	—	5.0	Jodstrich, Verband.
4. XII.	9^{00}	11000	3025	68.0	1.5	27,5	—	3,0	do.
5. XII.	9^{00}	11600	3248	68,0	1,0	28,0	0.5	2.5	do., Angina.
6. XII.	9^{00}	10800	2646	70,5	1,5	24,5	0,5	3,0	Jodstrich, Verband.
7. XII.	9^{00}	8600	3096	57.5	1,0	36.0	0.5	5.0	do.
8. XII.	9^{00}	6000	2160	56.0	1,0	36,0	—	7.0	do.
9. XII.	7^{30}	11400	5244	47,5	0,5	46.0	—	6.0	do., Zählung 1^h nach dem Abendessen.
10. XII.	9^{00}	7600	2622	58.0	1.0	34.5	—	5.5	Jodstrich, Verband.
11. XII.	9^{00}	8700	3697	49,0	2.5	42.5	0.5	5,5	do.
12. XII.	9^{00}	8500	3625	44,5	2,0	45,0	—	8,5	do.
13. XII.	9^{00}	15500	7052	48,5	1,0	45,5	—	5,0	do.
14. XII.	9^{00}	8500	3527	49,5	1,0	41.5	—	8.0	kein Jodstrich mehr.
15. XII.	9^{00}	10000	3400	60,0	1.0	34.0	—	5.0	
16. XII.	7^{00}	16400	5412	59,0	1.0	33.0	-	7.0	
17. XII.	10^{00}	—	—	63,0	2,0	31.5	—	3,5	
18. XII.	9^{00}	9200	2668	67.5	1.0	29,0	0.5	2.0	
19. XII.	9^{00}	7600	2090	66,0	2,0	27.5	—	4.5	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	
21. XII.	9^{00}	12800	2560	76,5	1,0	20,0	—	2.5	

Die Leukocytose verschwand auch nach Ablauf der Angina nicht ganz; allerdings hielt auch die Schwellung der Tonsillen noch bis nach Beendigung der Versuche an. Trotzdem gingen die

Lymphocytenzahlen noch einmal in die Höhe, um dann nach dem Aussetzen der Jodpinselungen allmählich zur Norm herabzusinken.

Ein gleichgearteter Versuch wurde am Hund XIII vorgenommen, dem der Rücken rasiert, und die Haut jeden Tag auf eine zweihandtellergroße Fläche mit Jodtinktur bestrichen wurde; eine langsame und stetige Steigerung der Lymphocytenzahlen war

XIII. Hund. ♀ weiß-grauer Spitz.

heftiges Ekzem, kein Jodstrich mehr

| = Jodstrich.

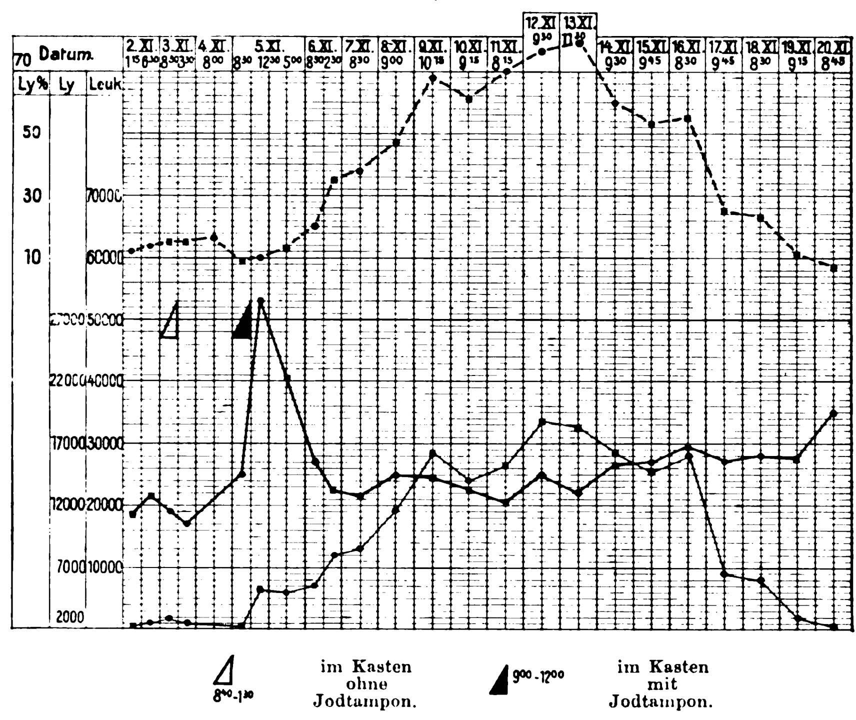
auch hier unverkennbar (s. Kurve); die Fortsetzung der Versuche wurde dann durch ein auftretendes heftiges Ekzem am Rücken verhindert.

Die Flüchtigkeit des Jods legte nun auch die Prüfung der Frage nahe, ob das Jod, durch die Respirationsorgane aufgenommen, ebenfalls das Blutbild in charakteristischer Weise zu verändern imstande sei.

Hund IX, der schon früher für die Jodoformversuche gedient und typisch reagiert hatte, wurde in einen Blechkasten gesetzt, in dem er gerade Platz fand, und der nur durch zwei zehn-

pfennigstückgroße Löcher im Deckel Luft von außen zuließ; in den Kasten wurde ein mit 20 ccm 10proz. Jodtinkturlösung getränkter Tampon seitlich hineingelegt und das Tier $2^3/_4$ Stunden in dem Kasten belassen. Bei der Blutuntersuchung zeigte sich zuerst ein kurzes Sinken, dann ein schneller und bedeutender Anstieg der Lymphocyten, die fast das Doppelte ihres Anfangswertes

XII. Hund. ♀ 3 Mon. alt.



erreichten, um nach 8 Tagen wieder auf Normalwerte abzusinken. Es zeigte sich hier, wie auch in den folgenden Tierversuchen, meistens ein viel früheres Auftreten der Lymphocytose, wie nach den subkutanen Jodoform- und Jodtinktur-Injektionen, offenbar weil die Aufnahme in den Organismus schneller erfolgte. Andrerseits aber vollzog sich auch die Ausscheidung sichtlich rascher, wie das schnelle Abklingen der Lymphocytose lehrt. Um Aufschluß über den eventuellen Einfluß des Aufenthalts im Kasten an sich festzustellen, wurde Hund XII, ein ganz junges Tier, zunächst ohne Jodtampon 5 Stunden lang im Kasten gehalten, ohne

daß sich wesentliche Verschiebungen im Blutbilde ergaben. Am folgenden Tage wurde dann das Tier, nachdem in den Kasten ein Jodtampon gelegt worden war, 3 Stunden in denselben gesperrt. Es zeigte sich nach der Herausnahme der überraschende Befund, daß die Leukocyten bei dem Tier, das munter war, innerhalb der kurzen Zeit sich um mehr als das Doppelte vermehrt hatten und in 3 Stunden von 25000 auf 53000 gestiegen waren; die hohen Leukocytenzahlen sanken allerdings rasch wieder ab. Ungemein deutlich war die Reaktion auf die Lymphocyten: zuerst ein kurzes Absinken, dann ein allmähliches stetiges Ansteigen bis zu der bedeutenden Höhe von 79,5 % (s. Kurve)!

Die Cornealtrübung und die eitrige Conjunctivitis, die das Tier nach der Herausnahme aus dem Kasten zeigte, ist wohl auf reine Ätzwirkung des Joddampfes zu beziehen; sie verschwanden wieder nach einigen Tagen.

Hund XIV, ebenfalls ein junges Tier, wies schon, nachdem es im Kasten ohne Jodtampon 3³/₄ Stunden geweilt hatte, eine Lymphocytensteigerung auf, die jedoch, wie sich dann herausstellte, darauf zurückzuführen war, daß nach dem Versuch mit Hund XII der Kasten nicht gelüftet und einer Reinigung nicht unterzogen worden war. Auf den dreistündigen Aufenthalt in dem Kasten unter der Wirkung von Joddämpfen reagierte auch dieses Tier zuerst mit einem Sinken, dann mit einem starken Anstieg der Lymphocyten (s. Protokoll); die Leukocytose trat bei ihm erst später ein wie bei Hund XII.

Ein gleichgearteter Versuch wurde am Hund XVII mit Ammoniak angestellt, das aber das Blutbild in keiner Weise zu beeinflussen vermochte; ein entsprechender Kontrollversuch mit Joddämpfen zeigte dagegen die gewohnte Lymphocytose (s. Kurve).

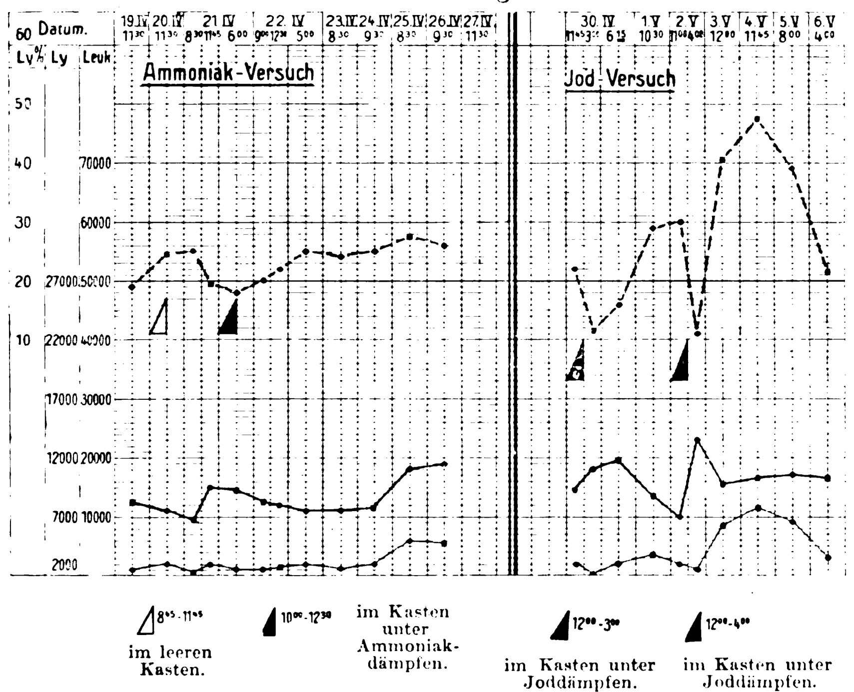
Nach diesen Versuchen war es klar, daß die Vermutung betreffs der Ursache der Lymphocytose im Blute der Gesunden sich als richtig erwiesen hatte; unentschieden blieb nur, ob das Jod durch die Haut oder durch die Respirationsorgane oder durch beide Eingang in den Organismus findet. Es ist ja eine noch immer umstrittene Frage, ob der therapeutische Erfolg der vielfach angewandten Jodpinselungen nur rein „derivierender" Natur ist, oder ob das Jod, wenigstens teilweise, durch die Haut resorbiert wird. Aus manchen Versuchen scheint eine Berechtigung zur Bejahung

XIV. Hund (kleiner Spitz). ♀

Datum		absol. Zahlen der		%-Zahlen der					Bemerkungen
Tag	Tageszeit	Leukocyten	Lymphocyten	neutroph. Leukoc.	mononukl. Leukoc.	Lymphocyten	Mastzellen	Eosinoph.	
10. XI.	11^{30}	14000	3270	71,5	1,5	25,5	—	1,5	
11. XI.	8^{45}	12000	3660	67,0	0,5	30,5	—	2,0	
12. XI.	11^{00}	12600	—	—	—	—	—	—	
13. XI.	9^{25}	12000	3240	68,5	2,0	27,0	—	2,5	9^{30}—1^{15} im Kasten mit Jodtampon.
	1^{15}	12800	3456	70,0	1,5	27,0	—	1,5	
	5^{30}	11000	3355	63,5	2,5	30,5	—	3,5	
14. XI.	8^{25}	13200	5908	51,0	2,0	44,0	—	3,0	8^{30}—11^{30} im Kasten ohne Jodtampon.
	11^{45}	12600	5410	60,0	5,0	35,0	—	—	
15. XI.	9^{30}	21000	9975	48,0	2,5	47,5	—	2,0	
16. XI.	9^{15}	17600	5280	64,0	4,5	30,0	—	1,5	
17. XI.	9^{15}	26000	14470	36,0	3,0	59,0	—	—	
18. XI.	8^{35}	26800	16884	35,5	1,5	63,0	—	—	
19. XI.	10^{15}	30200	20385	31,5	0,5	67,5	—	0,5	
20. XI.	10^{45}	35000	18775	49,0	2,0	48,5	—	0,5	
21. XI.	9^{45}	32000	16960	45,0	1,0	53,0	—	1,0	
22. XI.	10^{00}	18200	11193	36,0	2,0	61,5	—	—	
23. XI.	9^{15}	40000	16400	58,0	1,0	41,0	—	—	
24 XI.	9^{30}	25400	5461	77,0	1,5	21,5	—	—	
25. XI.	11^{45}	—	—	87,0	—	13,0	—	—	
26. XI.	10^{30}	11800	2714	74,5	0,5	23,0	—	2,0	
27. XI.	9^{30}	14200	4118	70,0	1,5	29,0	—	—	



XVII. Hund. ♂



8^{45}-11^{45} im leeren Kasten.

10^{00}-12^{30} im Kasten unter Ammoniakdämpfen.

12^{00}-3^{00} im Kasten unter Joddämpfen.

12^{00}-4^{00} im Kasten unter Joddämpfen.

der letzteren Frage hervorzugehen; schon 1873 hat Schede beobachtet, daß an den mit Jodtinktur bestrichenen Hautstellen eine starke Leukocytenansammlung stattfindet; er sah schon nach 2 Stunden zahlreiche lymphoide Elemente, besonders in der Nähe der Venen und Capillaren, die sich rapid vermehrten. Schede selbst sieht allerdings diese Erscheinung nicht als Ausdruck einer Jodresorption an, sondern als Ausdruck einer Gewebsreizung. Cloëtta nimmt an, daß das Jod in den Cholestearinfetten der Epidermis gelöst, sie durchdringt und dort teilweise resorbiert werden kann; weiter aber als bis ins Corium und seine Blutgefäße dringe es nicht. Dem scheinen auch die Versuche von Kellermann mit Jothionsalbe zu entsprechen, die eine Aufsaugung des Jods durch die Haut bis zu 11 % feststellen ließen. Schmiedeberg dagegen sieht den Erfolg der Jodpinselungen darin, daß an der Applikationsstelle in mäßigem Grade eine chronisch verlaufende Entzündung oder auch nur eine Steigerung der gewöhnlichen Ernährungsvorgänge auftritt, die zur Resorption pathologischer Produkte führen.

Die Schwierigkeiten einer exakten Entscheidung dieser Frage sind wohl darin gegeben, daß es sich einerseits nur um kleine Mengen Jod handelt, die resorbiert werden, anderseits aber auch eine quantitative Bestimmung des aufgenommenen Jods aus den Ausscheidungsprodukten des Körpers dadurch erschwert ist, daß über dem Modus der Jodeliminierung aus dem Organismus noch manches Dunkel herrscht. Die von uns am Menschen angestellten Versuche, bei denen Entzündungserscheinungen dadurch vermieden wurden, daß täglich die Applikationsstellen gewechselt wurden, scheinen allerdings mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit für eine, wenn auch geringe Resorption des Jods durch die Haut zu sprechen; es ist dabei aber zu berücksichtigen, daß bei der Flüchtigkeit der Substanz eine Aufnahme des Jods in den Organismus durch die Respirationsorgane nicht ausgeschlossen werden kann. Daß aber schon relativ kleine Mengen von Joddampf genügen, um im Blutbilde ganz bedeutende Verschiebungen hervorzurufen, das lehren die Tierversuche mit aller wünschenswerten Deutlichkeit. Man geht wohl auch nicht zu weit mit der Annahme, daß bei den Versuchen de Renzis, der schon 1886 tuberkulöse Meerschweinchen mit Jodinhalationen behandelte und sie länger als die Kontrolltiere am Leben erhalten konnte, die durch das Jod hervorgebrachte Lymphocytose eine bedeutende Rolle gespielt hat, wie noch zu zeigen sein wird.

Es wäre also nach unseren Versuchen ein naheliegender Gedanke, den Versuch der Behandlung von Phthisen mit Joddämpfen zu machen; es müßten nur Wege gesucht werden, um eine eventuelle Reizung der Schleimhäute dabei zu verhindern.

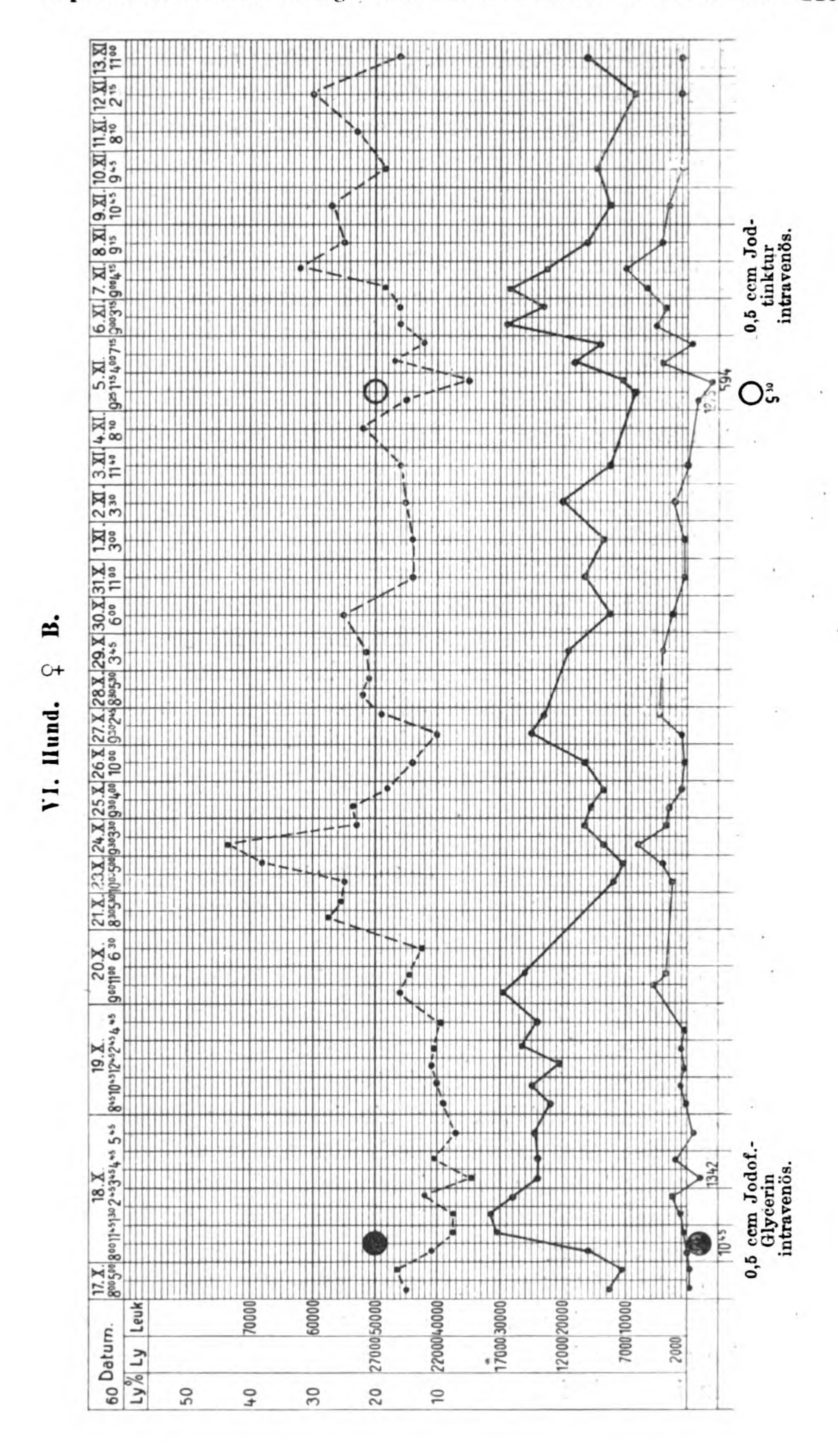
II. Theoretischer Teil.

Wenn nach den gemachten Beobachtungen die Lymphocytose als das hervorstechendste und typischste Merkmal der Jodoformreaktion auf das kreisende Blut neben der Hyperleukocytose hervortritt, dann scheint vor allem der Widerspruch einer Erklärung bedürftig, der zwischen diesem Resultate und der durch Experimente bekräftigten Auffassung Heiles zu liegen scheint, der den Heilungsprozeß nach Jodoform als durch die Zerfallsprodukte der eingewanderten polynukleären Leukocyten bedingt erklärt. Es mag demgegenüber betont werden, daß bei der erfolgreichen Behandlung des kalten Abszesses ja eigentlich zwei Prozesse vor sich gehen: es heilt nicht nur der lokale Prozeß, sondern auch die Tuberkulose aus. Kolaczek meint deshalb, die Ausheilung der Tuberkulose sei als Nebenwirkung des Jodoforms aufzufassen, läßt aber die Frage offen, „ob die einwandernden Leukocyten auf die Tuberkelbazillen entweder phagocytotisch wirken, oder ob der vom Ballast des kalten Abszesses befreite Körper durch Bakteriolyse leichter mit den Tuberkelbazillen fertig werde". Anders ausgedrückt muß also neben der lokalen Heilwirkung des Jodoforms auch eine allgemeine auf den Organismus angenommen werden, und es scheint daher durchaus gerechtfertigt, die im kreisenden Blute auftretende Lymphocytose als Ausdruck oder als Mittel dieser Allgemeinwirkung aufzufassen, während daneben der lokale Prozeß durch Einwanderung der polynukleären Leukocyten beeinflußt wird. Vielleicht ist es gerade so, daß die zuerst im Überschuß produzierten Polynukleären nach dem Tuberkuloseherd abwandern und so freie Bahn schaffen für die nachrückenden Lymphocyten. Daß im übrigen nicht nur bei der entfernt vom Krankheitsherd subkutan applizierten, sondern auch bei der direkt in den Abszeß vorgenommenen Injektion diese Allgemeinwirkung zustande kommt, daß also der Erfolg bei jeder Art der Jodapplikation derselbe ist, geht aus den Beobachtungen im Falle F. deutlich hervor.

Es wäre allerdings verfehlt, wollte man den Lymphocyten des kreisenden Blutes eine ähnliche proteolytische Wirkung zuschreiben, wie sie den zerfallenden polymorphkernigen Leukocyten im kalten Abszesse zukommt; darauf weist Kolaczek mit besonderem Nachdruck hin: „Das proteolytische Ferment der Leukocyten findet sich ausschließlich bei den Polymorphkernigen in scharfem Gegensatz zu den Lymphocyten, die es nicht besitzen; frei und wirksam aber wird es erst nach Absterben der Leukocyten; die Leukocyten des kreisenden Blutes besitzen das Ferment nicht.“ Zu einer richtigeren Auffassung der Dinge dürften vielleicht eher noch die im einzelnen noch zu besprechenden Versuche von Bartel und Neumann herangezogen werden, die in den Lymphocyten das Vorhandensein antitoxisch wirkender Stoffe bewiesen, die nach diesen Autoren aber nicht erst durch Autolyse frei werden, sondern schon normalerweise in diesen enthalten sein sollen. Bergel hat dann in weiteren Versuchen den Weg gezeigt, wie „diese antitoxische Wirkung“ zustande kommen könnte.

Es sei hier auch vergleichsweise darauf hingewiesen, daß einerseits von Barbacci, von Kraemer und von Baumgarten nach Injektion von Tuberkelbazillen bei der Tuberkelbildung eine massenhafte Auswanderung von polymorphkernigen Zellen gesehen wurde, was von den betr. Autoren als Fremdkörperwirkung oder als Gewebsschädigung aufgefaßt wird, und daß anderseits, wie aus der allgemeinen Pathologie bekannt ist, bei den nicht auf experimentellem Wege erzeugten Tuberkeln rings um die sog. Epitheloidzellen eine Infiltration von Lymphocyten stattfindet. Man ist auch hier geneigt zu glauben, daß die Auswanderung der Polymorphkernigen als lokaler Prozeß und die Lymphocyteninfiltration als Allgemeinreaktion des Organismus gedeutet werden dürfe.

Wenn weiterhin unter Berücksichtigung des Gesamtbildes der Veränderungen im kreisenden Blute zu einer Erklärung der nach Jodoform auftretenden Erscheinungen geschritten werden darf, dann verdient wohl in erster Linie die Theorie Berücksichtigung, die die Jodoformwirkung im wesentlichen als protrahierte Jodwirkung angesehen wissen will; darauf hat Högyes schon 1879 hingewiesen, ebenso Binz, der nachwies, daß die Entbindung von freiem Jod aus dem Jodoform in öliger Lösung schon binnen wenigen Minuten in einer Temperatur beginnt, die unter der des menschlichen Darmkanals liegt. Die Tatsache aber, daß das Jodoform in vielen Fällen


VI. Hund. ♀ B.
Datum.
Ly% Ly Leuk
0,5 ccm Jodof.-Glycerin intravenös.
0,5 ccm Jodtinktur intravenös.

eine so viel intensivere therapeutische Wirkung als das Jod zeigt, glaubte Moleschott dadurch erklären zu können, daß das Jod ganz allmählich abgespalten werde, und so in „statu nascendi" eine ganz besondere Wirkung entfalte.

Um nun diese vermutete Gleichheit der Jodoform- und Jodwirkung zu erproben, wurde einem Hunde (X) Jodtinktur injiziert und in dem Blutbilde der Prüfstein dafür gesucht, wie weit sich diese Gleichheit erstreckte. Dieser erste Versuch kann wegen der schon oben erwähnten Hautnekrose nicht für beweisend angesehen werden — es trat zuerst Sinken der Polynukleären, dann Anstieg dieser auf, während die Lymphocyten keine deutliche Reaktion zeigten. Ein zweiter Versuch mit Hund VIII (B) zeigte zwar keine Leukocytose, wohl aber bot das Blutbild nach den Injektionen ganz die vom Jodoform her bekannten Veränderungen.

Es wurden dann ferner bei Hund VI (B), der sich schon früher durch prompte Reaktion auf die subkutanen Jodoform-Injektionen ausgezeichnet hatte, zuerst 0,5 g Jodoform-Glycerin intravenös injiziert und dann, nachdem die darauffolgende Reaktion, nach dem Blutbilde zu urteilen, als abgelaufen gelten konnte, eine dem Jodgewicht nach äquivalente Menge einer 10proz. Jodtinktur (etwa 0,5 g) ebenfalls intravenös eingegeben. Dabei wurden beide Male dieselben Veränderungen im Blutbilde festgestellt, nur daß das Jodoform in demselben Organismus eine höhere Lymphocytose verursachte als die Jodtinktur (s. Kurve), ohne daß es freilich erlaubt schiene, schon daraus allgemeine Schlüsse über stärkere oder geringere Wirkung der einen oder anderen Substanz zu ziehen. Es erscheint vielmehr berechtigt, sowohl die Jodoform- als auch die Jodwirkung auf das Blut einheitlich und im Einklang und mit der oben betonten Allgemeinwirkung als eine posttoxische Erscheinung aufzufassen, wie sie in den Spätstadien des Typhus abdominalis, nach Pertussis, Scarlatina und Syphilis bemerkt wird; sie wird von Nägeli dahin charakterisiert, daß sie immer erst dann auftrete, „wenn unter dem Einfluß der toxischen Stoffe anfänglich eine Hemmung der Zellbildung (Verminderung der Lymphocyten) stattgefunden hat und nachher dann die Erholung und Neubildung über das Ziel hinausschießt".

Aber auch damit ist noch nichts über den Charakter dieser posttoxischen Erscheinung, vor allem noch nichts über die Art und Weise gesagt, wie sie Heilfaktoren gegenüber der Tuberkulose zu schaffen imstande ist.

Der nächstliegende Gedanke wäre vielleicht der, daß man die Lymphocytose als Ausdruck einer direkt desinfizierenden, baktericiden Wirkung des Jodoforms oder Jods auf die Tuberkelbazillen ansähe; in der Tat hat Arnold Cantani nachgewiesen, daß Jod noch in starker Verdünnung (1:500 und 1:1000) antiseptisch auf Tuberkelbazillen wirkt. So beweisend aber dieser Versuch außerhalb des Organismus auf den ersten Blick scheinen und zur Übertragung auf das Jodoform verleiten mag, so verliert er doch für das Jodoform jede Beweiskraft in dem Augenblicke, in dem man erfährt, daß trotz des langen Aufenthaltes des Jodoforms im Organismus — Holger Mygind berechnete ihn für 1 g Jodoform auf 22 Tage, für 1,5 g auf 28 Tage usw. — das Blut, das doch allein als Schauplatz des Kampfes zwischen Jod und Tuberkelbazillen in Betracht käme, gerade nach Jodoform-Applikation am wenigsten Jod enthält; das haben außer Paul Mulzer bei Jodoformintoxikation auch Oswald Loeb und Justus auf experimentellem Wege nachgewiesen. Daß aber auch das Jodoform, auch wenn es als solches im Blute kreiste, keine rein antiseptische Wirkung ausüben könnte, ist schon 1887 durch die Versuche von Rovsing, Baumgarten und Hayn erwiesen worden; sie fanden nämlich das Jodoform außerhalb des Organismus im Gegensatz zum Jod gänzlich unwirksam gegen pathogene Keime, so daß sie sogar Übertragungen mit nicht sterilisiertem Jodoform veranlassen konnten. Es scheint deshalb viel wahrscheinlicher, daß das Jodoform, sei es nun als solches oder als Jod, zunächst in den einzelnen Organen aufgespeichert wird und erst von dort aus seine toxischen Wirkungen entfaltet, indem es dort Eiweißverbindungen eingeht, die ihrerseits wieder Veranlassung zu Umsetzungen im Körper geben. Daß eine derartige Jodaufspeicherung in den Organen stattfindet, hat Oswald Loeb nachgewiesen, der nach Jodkaliumverabreichungen Jod in der Leber, in den Muskeln, Hoden, Nieren, Speichel- und Lymphdrüsen, Magen, Lungen, auffallenderweise viel im Blut und am meisten in der Schilddrüse fand; nach Jodoform aber fand er, wie schon bemerkt, im Blut nur wenig Jod, dagegen viel in der Speicheldrüse. Ebenso fanden Lorett und Emerson nach jeder Form der Jodeinführung am meisten Jod in der Schilddrüse und den lymphoiden Organen.

Nebenbei sei bemerkt, daß in neuester Zeit ein ganz ähnliches Verhalten nach der Injektion von Salvarsan gefunden wurde, bei dem das Blut trotz der offenbar intensiven Wirkung des Mittels auf die

im Blute kreisenden Spirochäten doch nur eine ganz schwache oder überhaupt negative Arsenreaktion liefert, während in sämtlichen Organen des Körpers und auch im Harn das Arsen deutlich nachgewiesen werden kann.

Aber selbst bei der, wie es scheint, mit Sicherheit anzunehmenden indirekten Wirkung des Jodoforms bleiben zwei ganz verschiedene Wege möglich, auf denen die Vorgänge bei dem therapeutischen Erfolg des Jodoforms zustande kommen könnten:

1. wäre es nämlich denkbar, daß die Eiweißverbindungen des Jodoforms eine Art toxischen Reizes auf die blutbildenden Organe ausübten, daß dadurch zuerst eine Polynukleose und, nachdem diese freie Bahn geschaffen hätte, eine Lymphocytose hervorgerufen würde. Daß aber die Lymphocytose als selbständiger Heilfaktor nicht zu unterschätzen ist, dürfte dann noch zu zeigen sein.

2. Aber wäre es auch möglich, daß die anfängliche Leukocytose und darauffolgende Lymphocytose weiter nichts sind als der Ausdruck einer Bildung von Schutzstoffen gegen die Tuberkelbazillen und erst die durch die Jodoformverbindung produzierten Schutzstoffe wären es, die die Heilung in die Wege leiteten. Auch hierfür müßten sich Analogien finden lassen.

Wird zunächst die unter 1. bezeichnete Möglichkeit ins Auge gefaßt, so sind es Versuche mehrerer Autoren, die ein Recht geben, in der durch die Injektion hervorgerufenen Lymphocytose die Möglichkeit eines selbständigen Heilfaktors zu erblicken. So hat Perez in vivo die virulenzabschwächende Wirkung der Lymphdrüsen erprobt, indem er verschiedenen Tieren sehr virulente Kulturen von Pneumokokken, Typhusbazillen, Streptococcus pyogenes aureus, Milzbrandbazillus, Bac. pestis bubonis und Tuberkelbazillen verimpfte und dann den aus Lymphdrüsen und Milz der infizierten Tiere gewonnenen Brei entweder direkt anderen Tieren inokulierte, oder zuerst auf Agar und Bouillon impfte und dann die gewonnenen Kulturen weiter verimpfte. Die Tuberkelbazillen verursachten nach einer 2—3maligen Passage durch die Lymphdrüsen nur eine ganz mild verlaufende Infektion und die weniger widerstandsfähigen Bakterien wie Pneumokokken konnten schon nach 1—2maligem Eindringen den Tod sehr empfänglicher Tiere nicht mehr herbeiführen. Schon früher haben Brieger, Kitasato und Wassermann den Bouillonkulturen verschiedener Krankheitserreger (Te-

tanus, Cholera, Diphtherie, Typhus, Erysipel, Milzbrand und Schweinerotlauf) Organbreiextrakte aus Rinderlymphdrüsen und einige Male aus Fischsperma zugesetzt oder solche selbst direkt als Nährböden verwendet, wobei sich ergab, daß zwar das Bakterienwachstum nicht gehemmt, aber die Toxizität in so erheblichem Maße aufgehoben wurde, daß zahlreiche Immunisierungsversuche mit derart entgifteten Kulturen mit großem Erfolg vorgenommen werden konnten.

Besondere Beachtung verdienen ferner hier die Versuche von Bartel und Neumann. Diese prüften in vitro die Wirkung der verriebenen Lymphdrüsen- und Milzsubstanz auf die mit denselben vermischten Tuberkelbazillen und es gelang ihnen, eine völlige Aufhebung der Virulenz zu erzeugen: Die 22 Tage lang unter solchen Bedingungen gehaltenen Tuberkelbazillen vermochten sogar nicht einmal mehr eine lokale Reaktion beim geimpften Meerschweinchen hervorzurufen. Andrerseits aber haben Versuche derselben Autoren, die die Wirkung der Leukocyten des in der Bauchhöhle von Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden erzeugten Aleuronatexsudates auf die Virulenz der Tuberkelbazillen prüften, zu vollständig negativen Resultaten geführt. Die Autoren kommen daher zu dem Schluß:

„Bei der Bekämpfung in den lebenden Organismus eingedrungener infektionsfähiger Tuberkelbazillen kommt weder dem Alexin, noch der polynukleären oder mononukleären Phagocytose eine ausschlaggebende Rolle zu. Die Phagocytose, die so augenfällig in Erscheinung tritt, daß danach allein v. Behring und Bail ihr eine größere Wirkung zuschreiben möchten, mag insofern von Bedeutung sein, als sie vorwiegend dazu bestimmt erscheint, eingedrungene Tuberkelbazillen in die Lymphdrüsen oder sonstigen Stätten mit Lymphocytenansammlung zu schaffen, wo der eigentliche Vernichtungskampf gegen die Infektionserreger und ihre Gifte geführt wird."

Es scheint also im Organismus bei der Abwehr der Bakterien in weit bedeutenderem Maße eine von den Lymphocyten ausgehende Abschwächung der Bakterientoxine in Betracht zu kommen, als eine Phagocytose durch die Polynukleären. Wie diese abschwächende Wirkung zustande kommen könnte, dafür hat Bergel in jüngster Zeit die Wege gezeigt; er wies nämlich nach, daß den Lymphocyten des menschlichen Blutes, einerlei ob sie aus tuberkulösem Eiter

oder aus der Milz oder von Lymphdrüsen stammten, ein „lipolytisches“ Ferment innewohnt, das selbst nach Absterben der Lymphocyten im stande ist, Fettstoffe zu lösen. Bei dem bekannten Fettgehalt der Tuberkelbazillen, eine Eigenschaft, die diese mit noch einigen Mikroorganismen teilen, ergibt sich für ihn daher die Wahrscheinlichkeit, daß die Lymphocyten „lipolytisch“ auf die Tuberkelbazillen wirken und zum mindesten ihre Virulenz abschwächen, wenn nicht gar sie ganz abtöten können. In der Tat scheint auch der Organismus nach dieser Richtung seine Schutzmaßregeln zu treffen; wir selbst haben bei chirurgischer Tuberkulose eine allgemeine Lymphocytose sehr oft feststellen können; ebenso andere, wie schon berichtet. In jüngster Zeit sind ferner von Solis-Cohen Untersuchungen veröffentlicht worden, wonach bei der Lungentuberkulose, wenn sie sich zur Heilung wendet, regelmäßig eine Lymphocytose zu beobachten ist, während bei Verschlimmerung und gegen das letale Ende zu ebenso regelmäßig eine Verminderung dieser zugunsten der Polymorphkernigen eintritt. Die Versuche von Bartel und Neumann zusammen mit den Untersuchungen von Bergel scheinen also direkt auf eine gewisse Spezifität der Lymphocyten gegenüber den Tuberkelbazillen hinzuweisen, und diese besteht darin, ebenso wie gegenüber den Erregern der Syphilis, der Lepra und der Aktinomykose, daß sie, angelockt durch diese Mikroorganismen, ihre fettspaltende Wirkung gegenüber diesen fetthaltigen Bakterienleibern entfalten.

Im Jod aber und im Jodoform wären damit relativ unschädliche Mittel gegeben, um auf leichte Weise den Organismus zu veranlassen, Lymphocyten in größerer Menge zu produzieren und zum Kampf gegen die Tuberkelbazillen auszusenden. Man ist da leicht versucht, vergleichsweise die Tatsache heranzuziehen, daß Struma, die nach den neuesten Untersuchungen ebenso wie Morbus Basedowii eine Lymphocytose im Blutbilde bewirkt, so selten mit Tuberkulose vereint vorkommt. Morbus Basedowii und Tuberkulose treffen allerdings häufiger zusammen, und auch da sollte man erwarten, daß die Lymphocytose einen wirksamen Schutz gegen die Tuberkulose ausüben würde. Aber vielleicht ist es da, abgesehen davon, daß bei der Basedowschen Krankheit durch die nervöse Kachexie und die Schwäche des Organismus den Tuberkelbazillen der Sieg erleichtert wird, doch nicht ganz ohne Bedeutung, daß Embden und Baumann bei dieser Krankheit einen auffallend geringen Gehalt der Schilddrüse an Jod nachwiesen! Nach der an-

genommenen Schutzwirkung der Lymphocyten aber würden dem Organismus durch Jod oder Jodoform ausreichendere Kampfmittel gegen die Tuberkelbazillen zur Verfügung gestellt werden können, als sie der Organismus aus sich selbst bei Struma aufzubringen vermag; denn die Lymphocytose bei letzterer ist nur relativer Art, weil sie meist ohne gleichzeitige Hyperleukocytose verläuft, während die Jodoforminjektionen eine auch absolut bedeutend vermehrte Lymphocytenmenge bedingen. Ohne daher weiter auf die Theorien auf dem zurzeit noch heiß umstrittenen Gebiete der Schilddrüsen-Pathologie einzugehen, sei es doch wohl hier schon gestattet, die Ansicht auszusprechen, daß dem Jod bzw. Jodoform mit ihrer lymphocytosebefördernden Wirkung für die Zukunft vielleicht doch in der Tuberkulosetherapie und vor allem in der Tuberkulose-prophylaxis eine größere Rolle zukommen wird als bisher.

Es darf allerdings nicht verschwiegen werden, daß der an sich sehr einleuchtende Gedanke eine ziemlich weitgehende Einschränkung erfährt durch die Versuche von Moro und Uffenheimer, die nicht die Einwirkung tierischer, sondern menschlicher Lymphe auf die Tuberkelbazillen untersuchten und diese Einwirkung sehr gering fanden. Nach diesen Autoren ist die menschliche Lymphe bei verschiedenster Anwendung in vitro nicht imstande, die Tuberkelbazillen in ihrer Wirkung irgendwie zu schädigen, und sie meinen, daß es sich nach den Untersuchungen von Bartel und Neumann, die ja der Phagocytose durch die Lymphocyten keine größere Bedeutung beimessen, bei der doch zweifellos im Lymphsystem gegebenen Schutzvorrichtung noch um besondere Vorgänge handeln müsse.

Wird hiernach nun die unter 2. aufgestellte Möglichkeit ins Auge gefaßt, die die Lymphocytose als eine nur symptomatische Erscheinung ansieht, dann muß besonderer Wert auf eine eventuelle direkte Wirkung der im Körper gebildeten Jod- oder Jodoformverbindungen auf die Tuberkelbazillen und ihre Produkte gelegt werden, zwar nicht im Sinne einer eigentlichen Antisepsis, sondern vielleicht eher im Sinne einer Entgiftung der Bakterienleiber oder Neutralisierung ihrer Toxine. In der Tat scheint dem Jod eine derartige Wirkung zuzukommen. So hat Livierato eine Reihe von Medikamenten (Kreosot, Jod, Natrium-Kakodylat und Terpentinöl) Kaninchen injiziert und das Blutserum dieser Tiere nach genügend langer Durchführung dieser Behandlung auf antitoxische und bactericide Eigenschaften untersucht; nur das Serum der mit Jod be-

handelten Tiere konnte bei Meerschweinchen, die eine tödliche Dosis Tuberkulin erhalten hatten, den Prozeß etwas aufhalten, während die anderen Sera ohne Wirkung waren. Auch Cantani stellt einen gewissen Antagonismus des Jods gegenüber dem Alttuberkulin fest. Das zeigte sich nach seinen Versuchen nicht nur bei der Mischung beider Stoffe in vitro, sondern auch bei gleichzeitiger Einverleibung beider Stoffe in einen tuberkulösen Körper: das Jod hebt die durch das Tuberkulin hervorgerufene Fieberreaktion auf, und Kranke vertragen bei gleichzeitiger Joddarreichung ungewöhnliche Tuberkulinmengen anstandslos. Cantani meint daher, daß das Jod einen besonderen direkten Einfluß auf das Tuberkulin besitze; Leonardo sucht die günstige Wirkung der subkutanen Jodjodkali-Injektionen, wie sie nach Durante bei Tuberkulose geübt werden, zu erklären durch die Erhöhung des opsonischen Index, welchen mehrere Autoren nach dieser Behandlung konstatiert haben wollen. Auch Isaya kommt zu dem Schluß, daß das Jod durch „eine allgemeine Wirkung auf den Organismus eine leichte Leukocytose und besonders eine Erhöhung der opsonischen Substanzen des Blutserums erzeugt".

Es kommt nun ferner hinzu, daß, wie eine ganze Reihe von Autoren feststellt (Ehrlich, Mankowski, Sahli, Grawitz u. a.), nach Injektion von Tuberkulin außer einer allgemeinen Leukocytose auch eine absolute Vermehrung der Lymphocyten bis zu 60 % und darüber auftritt; ja, Fauconnet beobachtete bei Kaninchen, denen er an mehreren Tagen hintereinander 0,05 g Tuberkulin injizierte, diese ausgesprochene Lymphocytose (bis zu 69 %) noch nach 14 Tagen nach der letzten Injektion. Eine chemotaktische Wirkung glaubt Fauconnet dabei ausschließen zu können, denn wenn er Röhrchen, mit Tuberkulin gefüllt, unter die Haut von Kaninchen schob, fand er nach 8—20 Stunden nur eingewanderte polymorphkernige Leukocyten.

Auch von uns wurden Beobachtungen mit steigenden Dosen Alttuberkulins an Hund IV, der schon früher auf Jodoform typisch reagiert hatte, gemacht und es ergaben sich im Prinzip die gleichen Erscheinungen im Blutbilde wie nach Jodoform und Jod: Leukocytose, Verminderung und dann Vermehrung der Lymphocyten.

Die Ähnlichkeit der Verschiebungen im Blutbilde nach Tuberkulin und Jodoform ist so frappant, daß man zunächst unwillkürlich zu der Meinung veranlaßt wird, daß die Jodverbindungen in

irgendwelcher Weise auf das „Körpertuberkulin", wie es zum Unterschiede von dem Alttuberkulin Kochi hier genannt werden möge, wirke, dieses etwa frei mache und deshalb so identische Symptome mit dem injizierten Alttuberkulin aufweise. Und warum sollte es so undenkbar sein, daß das durch die Jodverbindungen in Freiheit gesetzte „Körpertuberkulin" in derselben Weise wie das Alttuberkulin vielleicht auf gewisse Antitoxine des Körpers wirkt und daß die Lymphocytose den Ausdruck dieser identischen Vorgänge darstellt? Gegen diese Theorie scheint allerdings zu sprechen, daß, wie unsere Selbstversuche ergaben, der gesunde Organismus auf Jodoform ebenso reagiert wie der tuberkulöse; aber andrerseits wird dieser Einwand hinfällig durch die Tatsache, daß Nägeli und Burckhard schon längst nachgewiesen haben und auch von den Pathologen heute allgemein angenommen wird, daß fast jeder erwachsene Mensch in seinem Körper einen, wenn auch latenten oder abgeheilten Tuberkuloseherd besitzt.

Eine andere Erwägung läßt trotzdem die Annahme einer Wirkung der Jodverbindungen auf die „Körpertuberkuline" im Sinne einer Freimachung als unwahrscheinlich wieder fallen: das ist die sich daraus ergebende Notwendigkeit, daß dann das Jod und das Jodoform analog wie das Alttuberkulin im tuberkulösen Organismus eine viel heftigere Allgemeinreaktion auslösen müßten, wie im gesunden; es müßten neben einer eklatanten Fieberreaktion auch die anderen klinischen Symptome subjektiver und objektiver Art auftreten. Nun war ja in der Tat sowohl bei mir selbst als auch bei einigen der injizierten Fälle eine Temperatursteigerung um sechs bis acht Zehntel Grade am Tage der Injektion selbst und im Falle F. sogar eine mehrere Tage anhaltende bedeutende Temperaturerhöhung, allerdings ohne sonstiges Krankheitsgefühl, zu verzeichnen, und von der nicht allzu seltenen Erscheinung, daß nach den Jodoform-Injektionen sich eine mehrere Tage anhaltende vermehrte lokale Schmerzhaftigkeit und Schwellung der tuberkulösen Stelle — auch wenn entfernt von dieser injiziert wurde — einstellt, ist wieder der Fall F. ein typisches Beispiel. Aber abgesehen davon, daß eine solche stärkere Reaktion immerhin die Ausnahme bildet und zudem sich mit größter Wahrscheinlichkeit aus einer individuellen Jod-Idiosynkrasie sehr gut erklären läßt, kommt ja dem Jod, wie bereits berichtet, eine geradezu antagonistische Wirkung auf das Alttuberkulin zu, indem es seine klinische Reaktion vollkommen zu unterdrücken imstande ist.

Ein anderer Weg, um die Jod- und Tuberkulinwirkung auf identische Vorgänge zurückzuführen und dabei die Produktion von Schutzstoffen als das Wesentlichste im Auge zu behalten, kann aber vielleicht dann gefunden werden, wenn man daran denkt, daß sowohl das Jod als auch das Alttuberkulin im Organismus toxisch wirken muß. Daß das bei den Jodverbindungen der Fall ist, bedarf keines Beweises mehr; es folgt daraus auch mit Notwendigkeit, daß sie, in mäßigen Dosen dem Organismus einverleibt, Antikörper irgendwelcher Art bilden müssen. Es wäre daher denkbar, daß die nach der Aufnahme in den Körper auftretende Lymphocytose nicht nur eine posttoxische, sondern im gewissen Sinne auch antitoxische Erscheinung darstellt, daß sie also als ein sichtbarer Ausdruck der Antikörperbildung aufzufassen wäre. Diese im Überschuß gebildeten Antikörper — wie sie der nicht entkräftete Organismus stets produziert — spezifischer oder unspezifischer Art wären es dann, die heilend — auf welche Weise, ist noch auseinanderzusetzen — auf den tuberkulösen Prozeß einwirkten. Es steht aber nichts im Wege, die Bildung solcher Antikörper durch die Jodverbindungen auch im gesunden Organismus anzunehmen, nur daß sie auf einen Kampf gegen die Tuberkelbazillen verzichten müßten; die Wirkung auf das Blutbild aber müßte dennoch dieselbe sein wie im tuberkulösen Körper.

Solche Antikörper aber kommen nach der Tuberkulintheorie, wie sie von Wolf-Eisner aufgestellt und auch von Sahli, v. Pirquet und anderen vertreten wird, auch bei der Heilung der Tuberkulose durch Alttuberkulin als bedeutende Faktoren in Betracht. Nach jener Theorie nämlich ist nicht das injizierte Tuberkulin das eigentliche Gift, das die Tuberkulinreaktion hervorruft, sondern dieses Gift wird erst frei aus dem Tuberkulin, wenn es im Körper auf ein spezifisches „Lysin" trifft, das das große Tuberkulinmolekül zu kleineren, aber äußerst giftigen abbaut. Diese Lysine sind das eigentlich Schädigende, denn wenn sie nicht vorhanden wären, würden sich die Tuberkelbazillen im Körper nicht anders wie Saprophyten verhalten; sie müssen daher im tuberkulösen Organismus vorgebildet sein. Eine Tuberkulinreaktion als Zeichen der Lysinwirkung kann daher im gesunden Organismus nur dann ausgelöst werden, wenn ein latenter oder abgeheilter Tuberkuloseherd, wie nach Nägeli und Burckhard bei fast jedem Erwachsenen, sich findet, der die Anwesenheit von Lysinen, wenn auch in geringer Menge, bedingt. Die Alttuberkulininjektion be-

wirkt nun nach jener Theorie eine Zunahme der Lysinwirkung, d. h. es werden aus dem Tuberkulin in vermehrter Menge Lysine frei, die nun ihrerseits wieder paralysiert werden müssen, soll nicht der Organismus durch die Überschwemmung mit diesen Giften des „lysierten Tuberkulins“ zugrunde gehen. Dazu bedient sich der Organismus nach Sahli aber der Antikörper, die nach ihm nicht spezifischer Art zu sein brauchen; ihnen kommt also, wenn sie in genügender Menge produziert werden, die Eigenschaft zu, die manifesten Erscheinungen, die sonst durch die Lysinwirkung eintreten müßten, zu unterdrücken und so die Heilwirkung zu ermöglichen.

Nach den Bergelschen Untersuchungen wird es nun auch einleuchten, daß gerade die Lymphocyten als Träger dieser Antikörperwirkung, die bisher als unspezifisch angesprochen werden mußte, gelten dürfen; was bisher als „posttoxische Erscheinung“ aufgefaßt wurde, wird jetzt zu einer Art Chemotaxis, indem lipoide Substanzen, zu denen nach Kleinschmidt auch das Tuberkulin gehört, Antikörper produzieren, die die ihnen nahestehenden Lymphocyten anlocken und sie ihr lipolytisches Ferment auf die Tuberkelbazillen einwirken lassen.

Auf der Basis dieser Auseinandersetzungen liegt nun 1. der Annahme nichts mehr im Wege, daß den Jodverbindungen gegenüber der Körper dieselben oder mindestens gleichartige Antikörper lipolytischen Charakters produziert wie gegenüber den Giften des „lysierten Tuberkulins“, daß also auch die Jodheilung prinzipiell auf demselben Wege zustande kommt, wie die Heilung durch die Tuberkulininjektionen. Es würde sich dann 2. die Identität der Tuberkulin- und Jodwirkung auf das Blutbild ohne weiteres erklären. Drittens aber wäre dann auch ein Verständnis dafür zu gewinnen, daß das gleichzeitig mit Tuberkulin in den Körper einverleibte Jod die Fieberreaktion und die sonstigen klinischen Erscheinungen der Tuberkulinreaktion verhindert; denn das Jod unterstützt die durch die Gifte des „lysierten Tuberkulins“ angeregte Antikörperbildung aufs kräftigste und ist zudem vielleicht imstande, schneller solche Antikörper auf den Kampfplatz zu werfen als das injizierte Tuberkulin, das erst Lysine bilden und diese ihre abbauende Wirkung entfalten lassen muß, bevor den entstehenden Giften gegenüber Antikörper gebildet werden können; je rascher aber und je mehr Antikörper gebildet werden, um so

eher müssen die manifesten Tuberkulinerscheinungen unterdrückt werden.

Für den Weg, auf dem die Heilwirkung durch Jodoform und Jod zustande kommt, ergibt sich also für uns bei Zusammenfassung der unter 1. und 2. aufgestellten Möglichkeiten, daß die nach Jodoform auftretende Lymphocytose zwar den hauptsächlichsten therapeutischen Faktor darstellt, daß sie aber erst auf dem Umwege über die Antikörperbildung zustande kommt. Unsere Ergebnisse lassen sich daher etwa in folgendem präzisieren:

Das Jodoform erzeugt im Organismus — sei es direkt, sei es durch Vermittlung der Jodeiweiß-Verbindungen — Antikörper, wahrscheinlich lipoider Art; diese wirken ihrerseits wieder chemotaktisch auf die Lymphocyten, denen ein fettspaltendes Vermögen auf die fetthaltigen Tuberkelbazillen zukommt; letztere werden dadurch in ihrer Virulenz geschwächt oder ganz unschädlich gemacht.

Es ist nicht zu leugnen, daß, obwohl in obigen Darlegungen der Heilungsvorgang der Tuberkulose durch Jod und Jodoform verständlich gemacht werden und auch die Möglichkeit einer restlosen Erklärung der vielfach sich berührenden Tuberkulin- und Jodvorgänge gezeigt werden konnte, dadurch das Verständnis für den schon ohnehin komplizierten Mechanismus der Jod- und Jodoformpassage im Körper noch eine weitere Komplikation erfährt. Es ist aber zu hoffen, daß, wenn es der Forschung gelingt, das Verhalten der Bakterien und der Toxine im Organismus unter einfacheren Gesichtspunkten aufzufassen, damit sich auch die Heilungsvorgänge nach Jodoform und Jod als einfachere Vorgänge darstellen werden; das wäre nicht nur vom wissenschaftlichen Standpunkte aus zu begrüßen, sondern dürfte auch für die praktische Anwendung des Jodoforms und Jods nicht ohne Bedeutung werden.

Literatur.

1. Aschenheim, Zeitschr. f. Biologie, Bd. I.

2. Barbacci, Über die pathol. Histologie der Zelle, Zentralbl. f. allgem. Pathol. und path. Anat. 1902.

3. Bartel u. Neumann, Lymphocyt- u. Tuberkelbazillen. Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. XL, H. 4.

4. Baumgarten, Verhandl. der deutsch. pathol. Ges. 1902, S. 91.

5. Derselbe, Über das Jodoform als Antiparasiticum. Berl. klin. Wochenschr. 1887, Nr. 20.

6. E. Becher, Med. Klinik V., 37, 1909.

7. Bergel, Fettspaltendes Ferment in den Lymphocyten. Münch. med. Wochenschr. 1909, Bd. I und 1910, Nr. 36.

8. Derselbe, Deutsches Arch. f. klin. Medizin 1912, 106. Bd., H. 1. u. 2.

9. Binz, Arch. f. experim. Path. u. Pharmakol., Bd. XIII.

10. Bruns u. Nauwerck, Über die antituberkulöse Wirkung des Jodoforms, Bruns' Beiträge z. klin. Chir. 1888, Bd. 3.

11. Brieger, Kitasato u. Wassermann, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 12. 1892.

12. Cantani, Arnold, Über die antitoxische Wirkung des Jods bei Tuberkulose. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. L. XIII., 1. 1909.

13. Cloëtta-Filehne, Lehrb. d. Arzneimittellehre 1901.

14. Dunger, Arch. f. klin. Med. XCI, 3 u. 4, 1907.

15. Durante, Handb. f. chirurg. Pathol. u. Therapie, Bd. II.

16. Ellenberger, Vergleichende Physiologie der Haussäugetiere.

17. Fauconnet, Arch. f. klin. Med., Bd. 82, 1905.

18. Gasis, Über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf die experim. Leukocytose, Therapie der Gegenwart. N. F. IX. 1907.

19. Gianasso, Der Einfluß von Jodjodür-Einspritzungen auf die Blutbeschaffenheit von Kindern. Reform. med. Nr. 21, Ref. Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 41.

20. Goldscheider u. Jakob, Über die Variationen der Leukocytose. Zeitschr. f. klin. Med. XXV. 516, 1894.

21. Heile, Über intravitale Beeinflussung autolytischer Vorgänge am Körper. Zeitschr. f. klin. Med., Naunyns Festschrift 1904.

22. Herzig, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. LII, 21, 1905.

22. v. Hofer, Über das numerische Verhalten der roten Blutkörperchen bei subkutaner Anwendung des Jodoforms. Wiener med. Wochenschr. 1882, Nr. 38.

24. Högyes, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., Bd. X, 1879.

25. Holtzmann, Contribution à l'étude de la leucocytose. Arch. des sciences biolog. subl. par l'Inst. impér. de Med. exper. à St. Petersbourg, II, 4. 1893.

26. Isaya, La iodio nella tubercolosi chirurgica; suo mecanismo di azione. Verhandl. des Congresso della Società italiana di chirurgica Rom 1908. Ref. Berl. klin. Wochenschr. 1909, S. 425.

27. Justus, Über den physiol. Jodgehalt der Zelle. Virch. Arch. 176, S. 1.

28. Kellermann, Zeitschr. f. experm. Pathol. u. Therapie II, 2, 1905.

29. Kier, Nord. med. ark. Afd. II, N. F. VI, 4. Ref. Schmidts Jahrbücher.

30. Kleinschmidt, Berl. klin. Wochenschr. 1910, Nr. 2.

31. Klose, Experimentelle Untersuchungen über die Basedowsche Krankheit. Arch. f. klin. Chirurgie, 95. Bd., H. 3.

32. Kolaczek u. E. Müller, Über ein einfaches Mittel zur Unterscheidung tuberkulöser und andersartiger Eiterungen. Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 7.

33. Kolaczek, Über die Behandlung eitriger Prozesse mit Antifermenten. Bruns Beitr., Bd. 61, 1909.

34. Derselbe, Wolff-Eisners Handbuch der Serumtherapie, S. 286.

35. Kraemer, Wiener med. Wochenschr. 1900, S. 2121.

36. Lampé, Ed., Über den Wert der Sondernschen Resistenzlinie für die Diagnose u. Prognose in der Chirurgie. Inaug.-Diss. Frankfurt a. M. 1911.

37. Landerer, Eine neue Behandlungsweise tuberkulöser Prozesse. Münch. med. Wochenschr. 1888, S. 667.

38. Derselbe, Behandl. der Tuberkulose mit Zimtsäure. Leipzig 1892.

39. Leonardo, Ref. Münch. med. Wochenschr. 1909, S. 1808.

40. Livierato, Ann. da Inst. Maragliana II, 2, 1907.

41. Loeb Oswald, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm. LVI, 5 u. 6, 1907.

42. Levett u. Emerson, Monthly Bull. of the Massuch. State Board of Health. July 1909. Ref. Schmidts Jahrbücher 309, S. 28.

43. Mamel, Action comparée de l'iodioforme sur le Staphylococcus et sur les éléments de notre sang. Bull. de Thérap., Sept. 30.

44. v. Miculicz, Behandl. kalter Abszesse mit Jodoformemulsion. Wiener med. Wochenschr. 1884, Nr. 26.

45. Derselbe, Versuche über Resistenzvermehrung des Peritoneums gegen Infektionen bei Magen- und Darmoperationen. Verhandl. d. deutsch. Ges. f. Chir. 1904.

46. v. Moro u. Uffenheimer, Die Einwirkung menschlicher Lymphe auf die Tuberkelbazillen. Zeitschr. f. Hyg. LXVI, 3, 1908.

47. v. Mosettig u. Moorhof, Jodoform als Wundverbandmittel. Wiener med. Wochenschr. 1880, Nr. 33.

48. Myake, Experimentelle Studien zur Steigerung der Widerstandsfähigkeit der Gewebe gegen Infektionen. Mitteil. aus den Grenzg. der Med. u. Chirurgie 1904. Bd. 13.

49. Mulzer, Paul, cand. med., Über das Verhalten des Jodoforms im Tierkörper. Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap., I, 2, 1905.

50. Naegeli, O. Aschoffs Lehrb. der pathol. Anatomie, II, 1909.

51. Niehues, Die Resultate der Zimtsäurebehandlung bei chirurg. Tuberkulose. Zeitschr. f. Chirurg. 1900.

52. Pankow, Hegars Beitr. z. Geburtsh. u. Gynäk., Bd. IX, 3. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1905, II, S. 1504.

53. Perez, Zentralbl. f. Bakteriol. 1898, Bd. 23, I.

54. Plange, Allgem. Zeitschr. f. Psychiatrie LXVIII, 2, 1911.

55. de Renzi, La tisichezza polmonare. Neapel, Jovena 1889, zitiert nach Cantani, s. Nr. 12.

56. Roncagliolo Enrico, La leucocitosi da ergotina. Arch. ital. di Clin. med. XXXIV, 3 u. 4, 1895, Ref. Schmidts Jahrbücher, 1896.

57. Rovsing, Hat das Jodoform eine antituberkulöse Wirkung? Fortschr. d. Med. 1887, Nr. 9.

58. Sahli, Über Tuberkulinbehandlung. Basel 1910.

59. Solis-Cohen, Das Leukocytenbild bei der Tuberkulose. Americ. Journ. Med. sciences. 1911, Nr. 5. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 8, S. 439.

60. Schede, Über die feineren Vorgänge nach Anwendung starker Hautreize, besonders der Jodtinktur. Arch. f. klin. Chirurgie 1873.

61. Schwaer, Arch. f. Dermat. u. Syphil. XC, 102, 1908.

62. Schmiedeberg, Grundriß der Pharmakologie. Leipzig 1909.

63. Werner u. Lichtenberg, Über die Wirkung von Cholin-Injektionen auf die Leukocytenzahl des Kaninchenblutes. Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 1.

Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“.
(Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
Aus der Seuchenabteilung.
(Vorstand: Prof. Dr. Lentz.)

Ein Fall von Botulismus.

Von

Otto Ornstein,
Assistent des Instituts.

Züchtung eines Botulinus.

Der vorliegenden Untersuchung liegen zwei Fälle von Botulismus zugrunde, welche in der Kinderklinik der Universität Berlin zur Beobachtung kamen. Eine exakte klinische Diagnose wies die ätiologische Untersuchung sofort auf die rechte Bahn. Ein Auszug aus der Krankengeschichte des einen von zwei, an Fleischvergiftung verstorbenen Kindern, wie er dem Institut übermittelt wurde, besagt:

Erika Hoffmann, $2^3/_4$ Jahre alt, erkrankt am Dienstag, 18. 4. 1911, mit den Eltern und der Schwester nach dem Genuß von Schinken und Kuchen mit Mandeln. Es bestehen Hitze, Trockenheit im Munde und Durst, die Augen sind trübe, die Pupillen weit und starr, das Kind macht einen schläfrigen Eindruck.

Am 23. 4. 1911, dem Einlieferungstage, ist das Kind apathisch, ohne benommen zu sein, es reagiert auf Anrufe, das Gesicht ist ziemlich stark zyanotisch.

Die Augen erscheinen etwas vorgetrieben, der Lidschlag erfolgt selten. Infolgedessen Rötung der Konjunktiven, die Pupillen sind gleich weit, sehr weit, reagieren nicht auf Lichteinfall.

Augenbewegungen frei. Am Hintergrund nichts Besonderes.

Aus der Nase wird ein gelbliches Sekret stark abgesondert.

Die Zunge ist trocken, mit schmierigen Massen belegt (eingetrocknetes Sekret). Die gesamte Mund- und Rachenschleimhaut ist stark gerötet, mäßig geschwellt, keine Schorfbildung, Absonderung reichlicher schleimig-eitriger Massen, anscheinend aber nur aus der Nase heruntergelaufen.

Lungen ohne Besonderheit. Atmung anstrengend, kein Nasenflügelatmen.

Herz o. B.

Leib weich, nicht druckempfindlich. In der linken Unterbauchgegend zahlreiche Kotballen zu fühlen.

Die Leber überragt um Fingerbreite den Rippenbogen.

Milz nicht zu fühlen.

Stuhl hart, geformt, erst nach mehreren Einläufen erfolgend.

Patellarreflexe lebhaft, kein Babinski oder Fußklonus. Angedeutete Nackensteifigkeit.

Urin sauer. Alb., Sacch., Diazo negativ, Chloride stark vermehrt.

Verlauf: Kind schläft dauernd mit halboffenen Augen, wirft sich im Schlaf unruhig hin und her und murmelt unverständliche Worte.

Bei der Einlieferung zeigt die Körpertemperatur 38,3, sinkt am folgenden Tage auf 37,6, 37,5, um am Abend vor dem Tode auf 38,1 zu steigen.

26. 4. 1911, 7 Uhr morgens. Exitus unter dem Zeichen der Herzschwäche.

Mit Erika Hoffmann ist, laut Mitteilung vom 26. 4. 1911 aus der Charité-Kinderklinik, „ihre 14jährige Schwester verstorben, während die Eltern schwer krank darniederliegen. Die klinische Diagnose ist Fleischvergiftung."

Zur Untersuchung kamen ein Stück der Milz des verstorbenen Kindes, dazu Reste von konservierten Prünellen und Schinken, welche die Familie vor der Erkrankung genossen hatte.

Von der Milz wurden aërobe, meerschweinchenpathogene, auf Drigalski-Agar blauwachsende Stäbchen isoliert, die aber mit keinem der bekannten Erreger der Fleischvergiftungen übereinstimmten.

Aus den stark gärenden Prünellen wurden nur Hefen gezüchtet.

Mäuse und Ratten, die von den Schinkenresten gefressen hatten, zeigten keinerlei Erkrankung.

Auf Traubenzuckergelatine-Platten, welche mit einer Emulsion des verdächtigen Schinkens beimpft waren, zeigten sich etwa 12 Tage nach der Beimpfung, unter Sauerstoffabschluß, neben Saprophyten zwei kleine gasbildende Kolonien; ohne Verflüssigung oder beträchtliche Bröckelung, wie sie für Bazillus botulinus Ermengem charakteristisch sind.

Die mikroskopische Untersuchung zeigte ziemlich große, plumpe Stäbchen mit geringer Sporenbildung.

Die beiden Bläschen wurden möglichst frei von den umwachsenden Keimen im ganzen zu Gelatineplatten verarbeitet und anaërob gehalten. Nach etwa acht Tagen wuchsen in den Platten reichlich gasbildende und etwas verflüssigende Kolonien. Diese zeigten bei schwacher Vergrößerung ein kompaktes Zentrum, von einem Strahlenkranz umgeben, der in kürzeren und längeren geraden Ausläufern in die umgebende Gelatine hineinragte.

In mikroskopischen Präparaten waren Stäbchen von ziemlicher Dicke und wechselnder Länge, mit allen Stadien der Sporenbildung zu sehen; die Gramfärbung haftete bei einer Anzahl, andere wurden entfärbt.

Die direkte Reinzüchtung von diesen Platten gelang nicht, trotz wiederholter Abimpfung. Indes wurde schon jetzt in beimpfter Bouillon ein Gift festgestellt, das, unter die Haut gespritzt oder verfüttert, Mäuse und Meerschweinchen unter dem Bilde des Botulismus tötete.

Die Reinzüchtung der verdächtigen Bakterien gelang erst, als die eine der ersten Anreicherungsplatten im Wasserbade bei 76° erhitzt wurde und mit den so isolierten Sporen von Zeit zu Zeit (nach 10, 20, 30 und 40 Minuten) neue Kulturen angelegt wurden. Versuche mit 8 Tage alten Bouillonkulturen bestätigten den isolierten Bazillus als echten Botulinus. 0,01 unter die Haut gebracht tötete Meerschweinchen, 0,001 Mäuse, zehnfach geringere Dosen machten die Tiere noch merklich krank.

Kultur, Morphologie, Pathogenität.

Den bereits oben gemachten Bemerkungen über das kulturelle und morphologische Verhalten des Bazillus auf Gelatine ist nur hinzuzufügen, daß in den Reinkulturen das Wachstum schneller, reichlicher und unter stärkerer Gasbildung erfolgt. Die Gelatinekolonien bilden gewöhnlich unregelmäßige, von schwimmenden Bröckeln erfüllte Bläschen, die an der Oberfläche gelegen zu Verflüssigungstrichtern einschmelzen, in welchen man unter dem Mikroskop die Stäbchen in Bewegung sieht. In wenigen Tagen ist die ganze Kultur verflüssigt und besteht dann fast nur noch aus Sporen. Im Gelatinestich bildet der Bazillus perlenartig aneinandergereihte, opaleszierende Blasen, welche nach kurzer Zeit die Deckschicht durchdrängen und mit schaumigen Massen überziehen. Weiterhin verflüssigt sich der ganze Boden, und in dicken weißen Ballen sinkt die in Sporen umgewandelte Kultur auf den Grund des Röhrchens.

Auf Agarstich-Röhrchen ist die Gasbildung so heftig, daß in wenigen Tagen die Nährmasse völlig zersprengt wird, noch ehe es zur Entwicklung erheblicher Kulturmassen, entlang dem Impfstriche, gekommen ist.

Agaroberflächenkolonien zeigen, wenn sie nicht diffus wachsen ziemlich dicke, weißliche, undurchsichtige runde Kolonien mit leicht gekörntem und gezacktem Rande. Die Sporenbildung tritt auf Agar später ein als auf Gelatine und weniger stark. Auch

kommen, außer in Bouillon, besonders auf Agar häufig Spindelformen vor.

Dabei ist eine Beobachtung an Agarplatten erwähnenswert, welche nach etwa acht Tagen sehr schöne Kolonien auf der Oberfläche zeigten. In und zwischen diesen Kolonien waren, bei schwacher mikroskopischer Vergrößerung, nur Stäbchen ohne Sporen in lebhafter Bewegung zu sehen. Als aber diese Platten einige Stunden auf dem Tisch im Tageslicht gestanden hatten, hatte alle Bewegung aufgehört, und statt der verblaßten Stäbchen waren stark lichtbrechende Körnchen zu sehen, die bei der Untersuchung eines gefärbten Präparates sich als Sporen erwiesen.

Die Anzahl der Geißeln des Bazillus schwankt in ziemlich weiten Grenzen, von etwa 6—20. Das wechselnde Verhalten gegenüber der Gramfärbung ist schon erwähnt.

Die Züchtung des Bazillus auf Tieren, die mit sporenhaltiger Bouillon gespritzt wurden und starben, ist leicht und gelingt schnell, da die reduzierende Wirkung in Gelatine versenkter Organe, besonders Milz und Leber, das Wachstum begünstigt. 24 Stunden nach der Beimpfung kann schon lebhafte Gasbildung einsetzen, während die Kolonien noch im Organe verborgen sind.

Züchtung aus dem Kot von Tieren, welche mit Sporen, oder Gift und Sporen gefüttert waren, gelang dagegen bisher nicht. Ebensowenig aus den Organen nach der Fütterung verendeter Tiere, was in der mangelnden Infektiosität des Botulinus seine Erklärung findet.

Toxin.

Die Giftbildung des Bazillus unterlag auf den verschiedenen flüssigen Nährböden erheblichen Schwankungen. Bei der Prüfung einer großen Anzahl von Kolben verschiedenster Alkaleszenz, teils mit, teils ohne Unterschichtung mit Kalzium-Karbonat, mit Schweinefleisch- oder Rindfleischbouillon beschickt, ergab sich, daß eine gewöhnliche, natürlich-saure Bouillon mit Chapoteau-Pepton 2 %, Traubenzucker 2 %, Kochsalz ½ % versetzt und mit Kalzium-Karbonat unterschichtet, die stärksten Gifte gewährleistet, vorausgesetzt, daß sie frisch zur Beimpfung kommt. Diese Bouillon entspricht bezüglich der Alkaleszenz etwa einem Zusatz von 2,0 einer Normal-Sodalösung auf 100,0 neutraler Nährflüssigkeit. Folgender Versuch (s. Tabelle 1) möge das oben Gesagte erläutern.

Tabelle 1.

Rindfleisch- und Schweinefleischbouillon teils natürlich-sauer, teils nach Zusatz von 2,0 Normal-Sodalösung auf 100 Bouillon über den Lackmus-Neutralpunkt hinaus (letzterer ausgedrückt durch die Menge der bis zum Lackmus-Neutralpunkt zugesetzten Normal-Sodalösung), zu einem Teile auch mit Kalzium-Karbonat unterschichtet, beimpft und, nach etwa 14—16tägigem sichtbarem Wachstum bei 22°, Mäusen von 15—20 g i. v. eingespritzt:

Bouillon	Alkaleszenz	beimpft	i. v.	Wirkung von 0,0001	0,00001
Rinderb.	+ 0,6 + 2,0 n-Na_2CO_3	3. 10. 11	20. 10.	† nach 2 Tg.	lebt
Rinderb.	+ 0,6 + 2,0[1] „	3. 10. 11	20. 10.	† nach 1 Tg.	† n. 1½ Tg.
Rinderb.	— 0,6[1]) „	3. 10. 11	22. 10.	† beide innerhalb 20 Std.	
Schweineb.	+ 0,84 + 2,0 „	9. 10. 11	29. 10.	† n. 3—4 Tg.	lebt
Schweineb.	— 0,84[1]) „	9. 10. 11	29. 10.	† beide in etwa 20 Std.	

Wesentlich für die Giftbildung scheint die, bei Unterschichtung mit zerstoßenem Marmor, beständige Entsäuerung zu sein, wenn auch auf natürlichsaurer Bouillon Wachstum statthat.

Die Giftigkeit erreicht dann immer beträchtliche Werte (Tabelle 1), und in solchen Kolben scheint auch eine Abschwächung des Toxins mit der Lagerung kaum einzutreten, wenn man es mit Konservierungsmitteln, wie Phenol oder Toluol, versetzt über Marmor beläßt.

Die Giftbildung setzt schon einige Tage nach der Beimpfung beträchtlich ein und steigt noch nach 14 Tagen an. 0,00001 bis 0,000003 i. v. gespritzt, töten Mäuse von 15—20 g innerhalb 20 bis 30 Stunden; etwas größere Gaben, unter die Haut gebracht, nach einigen Tagen.

Bei Injektionen großer Giftmengen in die Blutbahn sterben Mäuse ganz akut, oft während der Einspritzungen unter heftigen Krämpfen. Die Augen treten dabei kugelartig hervor, die Lungen sind aufs höchste gebläht. Sind die Symptome über einige Sekunden bis zu einer Minute ausgedehnt, so gehen die krampfartigen Zuckungen in einen Opisthotonus über. Aus dem Maule tritt blutig-schaumige Flüssigkeit, die Lungen sind prall mit letzterer gefüllt, die Pleuren mit Blutungen durchsetzt. Im Pleuraraum findet sich reichlich blutig-seröse Flüssigkeit; dabei schlägt das Herz zunächst weiter, um dann bald prall gefüllt in Diastole stehen zu bleiben. Die zur Erzielung dieser Wirkung notwendigen Dosen betragen bei hochwertigen Giften 0,5 bis 0,2, vorausgesetzt, daß sie frisch und in Rindfleischbouillon erzeugt sind.

[1]) Mit Kalzium-Karbonat unterschichtet.

Frische Schweinefleischbouillon-Gifte scheinen diesen jähen Tod nicht herbeizuführen. Bei diesen, wie überhaupt bei alten Giften, gehen unter den gleichen Verhältnissen die Krämpfe zunächst vorüber, der Tod tritt erst nach etwa einer Stunde ein; das Lungenödem ist dann nicht so ausgesprochen.

Bei Meerschweinchen ist frisches Gift erst in wenigen Stunden tödlich, auch in großen Dosen, 2,0—3,0. Bei Kaninchen bedarf es ebenfalls längerer Zeit. Die Einverleibung alter Toxine wirkt bei diesen Tieren sehr langsam, ohne daß die absolute Giftigkeit erheblich eingebüßt zu haben braucht.

Anti-Toxin.

Bei den Versuchen, das Toxin mit den Anti-Toxinen des Bazillus Ermengem und des Bazillus Darmstadt zu neutralisieren, schien es zunächst, als wären beide imstande, das Gift des neuen Bazillus zu binden. Die Versuche, die mit ganz kleinen Dosen Toxins und großen Anti-Toxinmengen angestellt wurden, wären nicht erwähnenswert, wenn sie nicht in einem gewissen Gegensatze zu den Versuchen von Leuchs ständen. Dieser fand nämlich, daß seine heterologen Anti-Toxine eben tödliche Giftdosen der Bazillen Ermengem und Darmstadt in ihrer Wirkung beschleunigten, ähnlich wie normales Pferdeserum. Die Toxin-Anti-Toxin-Gemische wurden bei diesen Versuchen Meerschweinchen unter die Haut gespritzt. Es wäre danach nicht möglich, bei Meerschweinchen auch einfach tödliche Dosen mit Normalserum zu neutralisieren. Wie nun aus der folgenden Tabelle 2 ersichtlich ist, werden tödliche Dosen von Darmstadt- wie Ermengem-Gift durch normales Serum neutralisiert; ein heterologes Serum muß unter diesen Umständen also wie ein normales wirken.

Tabelle 2.

Darmstadt-Toxin, einfach tödliche Dosis, unter 0,002, altes Darmstadt-Anti-Toxin (0,1 neutralisiert 10 für Meerschweinchen in vier Tagen eben tödliche Dosen Giftes: Leuchs). Toxin-Anti-Toxin-Mischung mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1,0 gebracht und Mäusen i. v. gespritzt.

Datum	Toxin	Anti-Toxin	Norm. Pf.-Serum	Wirkung
15. 11. 11	0,01	0,1	—	lebt
15. 11. 11	0,01	0,5	—	lebt
15. 11. 11	0,005	—	0,5	lebt
15. 11. 11	0,01	—	—	tot 16. 11.
10. 11. 11	0,002	—	—	tot 11. 11.
10. 11. 11	0,005	—	—	tot 11. 11.

Botulinus-Toxin, vom 3. X. 1911, einfach tödliche Dose 0,00002 mit demselben Darmstadt-Anti-Toxin gemischt, in gleicher Weise Mäusen i. v. injiziert.

Datum	Toxin	Anti-Toxin	Norm. Pf.-Serum	Wirkung
15. 11. 11	0,00002	0,1	—	lebt
15. 11. 11	0,00002	0,5	—	lebt
15. 11. 11	0,00001	0,5	—	tot 17. 11.
15. 11. 11	0,00002	—	—	tot 16. 11.
15. 11. 11	0,00001	—	—	lebt
10. 11. 11	0,00001	—	—	tot 12. 11.

Das gleiche Botulinus-Toxin und ein altes Ermengem-Anti-Toxin (0,0002 neutralisiert 10 für Meerschweinchen in vier Tagen tödliche Dosen Giftes: Leuchs).

Datum	Toxin	Anti-Toxin	Norm. Pf.-Serum	Wirkung
15. 11. 11	0,00002	0,001	—	lebt
15. 11. 11	0,00002	0,01	—	lebt
15. 11. 11	0,00002	0,01	—	lebt
15. 11. 11	0,00002	—	—	tot 17. 11.

Ermengem-Toxin vom 20. 5. 1911, einfach tödliche Dosis 0,004, zur Auswertung mit neuem Ermengem-Anti-Toxin gemischt, wie oben:

Datum	Toxin	Anti-Toxin	Norm. Pf.-Serum	Wirkung
18. 5. 12	0,004	0,0001	—	lebt
18. 5. 12	0,004	—	0,05	tot 20. 5.
18. 5. 12	0,004	—	0,1	lebt
18. 5. 12	0,004	—	—	tot 20. 5.
18. 5. 12	0,002	—	—	lebt
24. 5. 12	—	—	0,1	lebt
24. 5. 12	—	—	0,5	lebt

Die Erklärung für die den Leuchsschen entgegengesetzten Ergebnisse mag aber, abgesehen von den verschiedenen Tierarten, in der verschiedenen Applikationsweise liegen, da durch die Versuche von Behrings, Morgenroths, Ottos und Sachs', Madsens u. a. zum mindesten erwiesen ist, daß die Bindungsverhältnisse von Toxin und Anti-Toxin sich, je nach der Applikationsart, ganz verschieden gestalten müssen, wobei Resorption und Verdünnung der

Mischung eine noch ungeklärte Rolle spielen, wohl auch das Alter der verwendeten Gifte und Gegengifte.

Es wurde dann ein Anti-Toxin des Bazillus Ermengem an Mäusen ausgewertet, welches gegen 0,08 Gift, etwa 100 einfach tödliche Dosen, in der Menge von 0,014 schützte. (Toxin und Anti-Toxin gemischt und als 1,0 i. v. gespritzt.)

0,036 dieses Anti-Toxins banden 0,02 des fraglichen Botulinus-Giftes, vom 4. VI. 1912, etwa 2—300 tödliche Dosen. In Hinsicht auf das Ermengem-Anti-Toxin konnte also das erste Ergebnis bestätigt werden.

Darmstadt-Anti-Toxin stand zur Nachprüfung nicht mehr zur Verfügung. Es konnte also erst mit dem neuen Anti-Toxin dessen Verhältnis zum Darmstadt-Gift festgestellt werden.

Mit dem neuen Botulinusgift wurde inzwischen ein Pferd immunisiert. Es war mit einer Dosis begonnen, die ein Meerschweinchen von 250 g, bei intravenöser Injektion, in etwa drei Tagen tötete. Die Injektionen wurden entsprechend dem Vorgange von Kempner, Forssmann und Leuchs unter die Haut hinter dem Schulterblatte gemacht. Aus der Tabelle 3 ist der Gang der Immunisierung und die Reaktionen des Tieres ersichtlich.

Tabelle 3.

Brauner Wallach mit dem Phenolgift vom 3. 10. 1911 (Rindfleischbouillon, — 0,6 Normal-Sodalösung mit Kalzium-Karbonat unterschichtet, 0,00002 für Mäuse i. v. innerhalb 24 Stunden tödlich, für Meerschweinchen i. v. 0,0001 in etwa 3 Tagen) immunisiert.

Gewicht	Giftmenge	Datum	Temperaturen und Bemerkungen	
443 kg	0,0001	13. 11. 11	37,7°	p. inj. 38,2° abends
—	—	14. 11. 11	37,8° morgens	—
—	0,0005	20. 11. 11	37,9°	p. inj. 38,2° „
—	—	21. 11. 11	38° „	38° „
—	—	23. 11. 11	37,7° „	37,5° „
435 kg	0,001	27. 11. 11	— „	p. inj. 37,8° „
—	—	28. 11. 11	37,5° „	37,7° „
—	0,002	4. 12. 11		—
439 kg	0,005	12. 12. 11		—
—	0,01	18. 12. 11		—
421 kg	—	27. 12. 11		—
—	0,01	3. 1. 12		—

Aus äußeren Gründen wird die Immunisierung unterbrochen; wieder-aufgenommen

Gewicht	Giftmenge	Datum	Temperaturen und Bemerkungen
—	0,0025	22. 4. 12	37,6° p. inj. 38,7° abends
—	—	23. 4. 12	37,6° morgens 37,3° „
—	0,005	2. 5. 12	—
—	0,02	12. 5. 12	—
—	0,05	22. 5. 12	—
—	—	1. 6. 12	41,4° Lymphangitis infolge Huf-verletzung
—	0,1	7. 6. 12	37,9° bei der Injektion
—	0,2	18. 6. 12	—
—	0,5	28. 6. 12	—
—	1,0	6. 7. 12	—
—	2,0	16. 7. 12	Blutentnahme
437 kg	4,0	27. 7. 12	—
—	8,0	10. 8. 12	—
—	—	24. 8. 12	4 Liter Blut entnommen

Nachdem durch vorläufige Blutentnahme ein Anwachsen des antitoxischen Titers festgestellt war, wurde am 24. 8. 1912 eine größere Menge Blut entnommen. Das Serum zeigte im Hinblick auf die geringe Menge Toxin, welche im ganzen einverleibt war, leidlich antitoxische Kraft, 0,005 des Serums neutralisierten 0,02 des Toxins vom 4. 6. 1912, etwa 200—300 für Mäuse i. v. einfach tödliche Dosen.

Tabelle 4.

Darmstadt-Toxin einfach tödliche Dosis unter 0,005 und Botulinus-Antitoxin 16. 7. 1912 entnommen (0,05 neutralisert 0,02, Botulinus-Toxin vom 4. 6. 1912 etwa 200—300 für Mäuse i. v. einfach tödliche Dosen Giftes. Mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1,0 gebracht und Mäusen von 15—20 g i. v. gespritzt.

Datum	Toxin	Anti-Toxin	Norm. Pf.-Serum	Wirkung
14. 8. 12	0,005	—	—	gestorben 15./16. August 1912
14. 8. 12	0,005	—	0,01	
14. 8. 12	0,005	—	0,05	
14. 8. 12	0,005	0,01	—	
14. 8. 12	0,005	0,02	—	
14. 8. 12	0,005	0,05	—	15. 8. kleineres Tier

Von dem Serum am 16. 7. 1912 entnommen (Immunisierungsmenge bis dahin 2,0 des verwendeten Toxins), schützten 0,05 gegen die oben erwähnte Test-Giftdosis: 0,02.

0,02 dieses Serums neutralisierten 0,08 des schon angeführten Ermengem-Giftes völlig; aber auch 0,01 schützte noch, indes das Tier leicht erkrankte. Dagegen versagten diese Antitoxin-Dosen gegen die kaum mehr als tödliche Menge eines Darmstadtgiftes (Tabelle 4).

Es war damit festgestellt, daß der gefundene Botulismus-Erreger ein Botulinus Ermengem ist.

Botulinus Ermengem und Darmstadt.

Seit Ermengems Untersuchungen, welche einer klinisch bestimmten Form der Fleischvergiftungen auch hinsichtlich der Ätiologie ihre Sonderstellung einräumten, sind pathogene Saprophyten, wie der damals isolierte Bazillus Botulinus, nur noch wenige Male gezüchtet worden. Nur drei Fälle sind in der Literatur zu finden, wo es bei Gelegenheit von kleineren Epidemien geschah.

Römer hat 1906 einige Erkrankungen in Ullrichstein und den Erreger als übereinstimmend mit dem der Epidemie von Ellezelles beschrieben, wobei allerdings der Nachweis eines homologen Giftes fehlt.

Madsen[1]) hat 1901 in einer Makrele, deren Genuß drei Personen einer Familie in Orö (Dänemark) an Botulismus erkranken ließ, spärliche anaerobe Mikroorganismen gesehen. „Der Fisch besaß einen intensiven buttersäureähnlichen Geruch.“ Ein durch Filtrieren von der Salzlake gewonnenes toxisches Produkt konnte durch Ermengem-Antitoxin (von Forßmann) neutralisiert werden.

In Iseghem endlich (Westflandern) wurden von van Ermengem[1]) 1906, gelegentlich einer Reihe leichterer Botulismuserkrankungen, aus „Schinken anaerobe Bazillen isoliert, die sich in ihrem mikroskopischen und kulturellen Verhalten als dem Bazillus von Ellezelles sehr nahestehend erwiesen. Sie verflüssigten jedoch die Traubenzuckergelatine viel langsamer als jener, und ferner bildeten sie bedeutend weniger wirksames Toxin.“

Eine Sonderstellung nimmt der aus konservierten Bohnen iso-

---

[1]) Zitiert nach v. Ermengem: Der Bac. botulinus und der Botulismus, in Kolle und Wassermanns Handbuch der path. Mikroorganismen, Bd. IV, 1912.

lierte Botulinus ein, welcher die Ursache einer größeren Epidemie in Darmstadt gewesen ist.

Die von Leuchs dargestellten Anti-Toxine des Botulinus Ermengem und des Botulinus Darmstadt haben sich als heterolog erwiesen, aber auch die morphologischen und biologischen Merkmale der beiden Erreger geben Anlaß zur Annahme zweier verschiedenen Arten.

Die Bohnenbazillen sind viel schlanker, auch kürzer und halten Gram schlechter; die Begeißelung ist eine anders geartete und neigt zur Zopfbildung. Auf Gelatine und in Bouillon wachsen die Keime gern zu Fäden und Knäueln aus, Sporen sind in den untersuchten Kulturen seit anderthalb Jahren nicht mehr zu sehen. Das mag die Schwierigkeiten bei der Überimpfung erklären, denen man mit diesem Bazillus oft begegnet. Die gewöhnlichen, für Ermengem-Bazillen verwendeten Nährböden sagen ihm nicht zu. (Sie müssen sorgfältiger bereitet werden, und auch dann bleibt auf vielen Kulturen Wachstum aus; leichte Karamellierung des Zuckers durch langes Kochen, Zusatz von Chapoteau-Pepton und eine ziemlich starke Alkaleszenz des Agars, etwa 1,0 bis 2,0 einer Lösung [10:100] kristallisierter Soda, auf 100,0 Nährboden, dazu reichliches Impfmaterial begünstigen das Wachstum, zumal wenn von Gelatine zu Agar gewechselt wird.) Gasbildung fehlt beim Darmstadt-Bazillus meist auf festen Nährböden, der Agar-Impfstich ist immer dick umwachsen; seine Temperaturbreite ist größer als die des Ermengem-Bazillus, das Gift ein heterologes und seine Bildung viel geringer.

Die Wirkungsweise der beiden verschiedenen Gifte scheint aber die gleiche zu sein, und hinsichtlich der Pathogenese des echten Botulismus gehören beide zusammen.

Schinkenvergiftungen.

Der Bazillus Ermengem hat bis jetzt, wenn man die oben erwähnten Fälle dazu rechnet, fünf Epidemien verursacht und zwar viermal durch Schinken.

Kempner hat einen Botulinus aus Schweinekot isoliert und durch die Immunreaktion mit dem Botulinus Ermengem identifiziert.

In der Wiener klinischen Wochenschrift 1904 hat Pelzl einige Fälle von Botulismus beschrieben, welche mit dem Genusse von „geräucherter Hauswurst“ zusammenhingen, wenngleich hier allein die klinische Darstellung den Beweis führt.

Schneidemühl hält nach dem Verlaufe der Geburtsparalyse der Rinder diese tödliche Erkrankung für echten Botulismus, ohne daß allerdings der ätiologische Nachweis hierfür bisher geführt wäre.

So sicher nun experimentell eine erhebliche Infektiosität des Bazillus nicht nachzuweisen ist, so sicher schon die Temperatur der Warmblüter das Wachstum des Botulinus verlangsamt und die Giftbildung verringert, wie vor allem van Ermengem gezeigt hat, so spricht doch manches dafür, daß er unter besonderen Umständen ins Körperinnere eindringen kann.

Ermengem hat ja den Erreger in der Milz eines der Verstorbenen von Ellezelles festgestellt; und Römer beschreibt eine Züchtung aus den Organen eines Tieres, das nach Verfütterung einer großen Menge sporenhaltigen Giftes gestorben war.

Es ist nun nach dem Erwähnten denkbar, daß Schweine in besonderer Weise der Aufnahme der Botulismusbazillen bzw. deren Sporen ausgesetzt sind, und daß beim Zustandekommen der Schinkeninfektionen Bedingungen vorhanden sind, die das Eindringen der Keime vom Darme aus begünstigen. Ob das noch während des Lebens der Tiere, etwa unter einer die natürliche Resistenz herabsetzenden Erkrankung, oder erst nach dem Tode möglich ist, muß dahingestellt bleiben.

Eine Schmutzinfektion der Schinken mit Sporen ist um so weniger wahrscheinlich, als Botulinus in Würsten, die in die Därme von Schweinen gepreßt und eingenäht, wie Schinken roh getrocknet und geräuchert, bisher jedenfalls nicht festgestellt worden ist, während Fleischvergiftungen der infektiösen Art häufig genug vorkommen. Es liegt aber nahe, anzunehmen, daß auch Würste durch in sie verarbeitetes Fleisch oder Organe, nicht etwa durch Reste von Darminhalt in den zur Präservierung dienenden Därmen zur Infektion mit Botulinus gelangen können; denn unter den günstigen Bedingungen, die der Darm den Anaerobien bietet, werden hineingelangende Sporen wohl auskeimen und dann bei der Vorbereitung der Därme des getöteten Tieres zur Füllung leicht vernichtet werden.

Literatur.

Van Ermengem, Über einen neuen anaëroben Bazillus und seine Beziehungen zum Botulismus. Zeitschrift f. Hyg. u. Inf. Bd. XXVI.

Derselbe, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. In Kolle-Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. II. 1903 und Bd. IV. 1912.

J. Forßmann, Studien über die Antitoxinbildung bei aktiver Immunisierung gegen Botulismus. Zentralblatt f. Bakteriologie 1905, Bd. XXXVIII.

Kempner, Weiterer Beitrag zur Lehre von der Fleischvergiftung. Das Antitoxin des Botulismus. Zeitschrift f. Hyg. u. Inf. 1897, Bd. XXVI.

Römer, Ein Beitrag zur Ätiologie des Botulismus. Zentralblatt f. Bakteriologie. Bd. XXVII.

G. Landmann, Über die Ursache der Darmstädter Bohnenvergiftung. Hyg. Rundschau 1904, Bd. IV.

Th. Madsen, Über das Wurstgift und sein Gegengift. Zentralblatt f. Bakt. 1905. Ref. Bd. XXXVII.

Otto u. Sachs, Über Dissoziationserscheinungen bei der Toxin- Antitoxinverbindung. Zeitschrift f. exper. Path. u. Therapie, Bd. III.

Morgenroth, Untersuchungen über die Bindung von Diphtherietoxin und -antitoxin, zugleich . . . Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1904, Bd. 48.

Morgenroth und Levy, Über die Resorption des Diphtherieantitoxins. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1911, Bd. 70.

Leuchs, Beiträge zur Kenntnis des Toxins u. Antitoxins des Bac. Botulinus. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1910, Bd. 65.

Pelzl, Über Botulismus. Wiener klin. Wochenschrift 1904, Nr. 31.

Schneidemühl, Über Botulismus beim Menschen u. die sogen. Geburtsparalyse bei Rindern. Zentralblatt f. Bakteriologie Bd. XXIV, S. 577 u. 619.

Weitere Literatur siehe auch:

Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen in Kolle-Wassermanns Handbuch.

Th. Madsen, Botulismustoxin u. -antitoxin in Kraus-Levaditis Handbuch der Technik u. Methodik der Immunitätsforschung. 1908 Bd. 1 u. 2.

Druckfehlerberichtigung in Heft 1.

Unterschrift auf Tafel 1: Hirnlues statt Birulues.

Unterschrift auf Tafel 2: Meningitis statt Meeningitis.

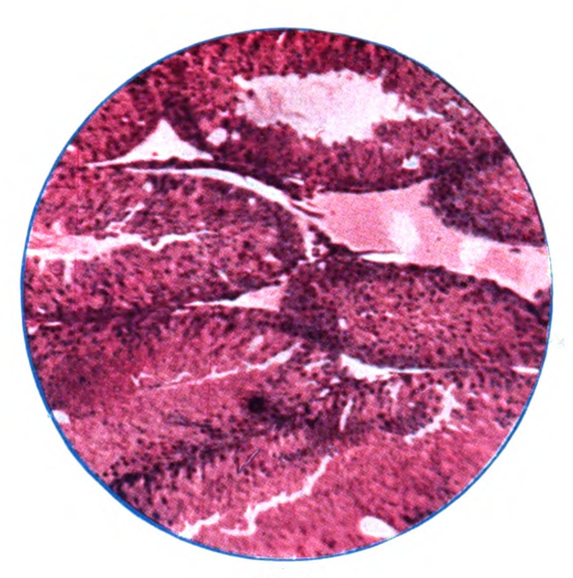


Fig. 1.
Normaler Rattenhoden.

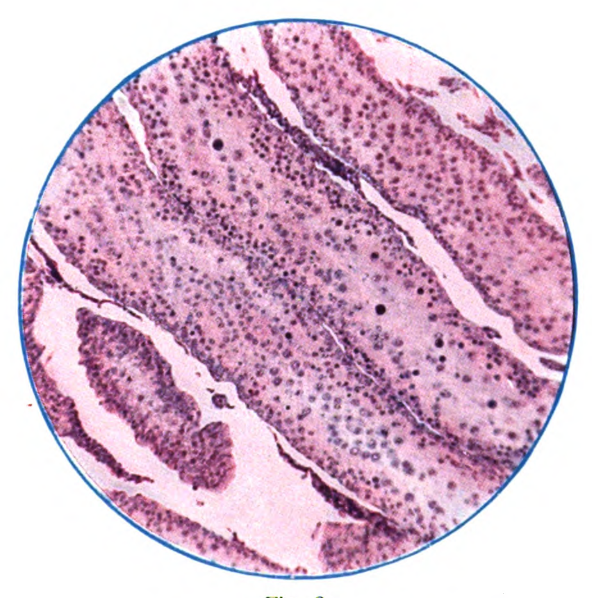


Fig. 2.
Hoden einer mit Borcholin behandelten Ratte.
Beschreibung siehe im Text auf Seite 381 und 382.

Die mikroskopischen Präparate sind alle mit Haematoxylin-Eosin gefärbt worden. Alle Bilder sind nach farbigen (Lumière) Aufnahmen reproduziert worden.

Verlag von Georg Thieme in Leipzig.



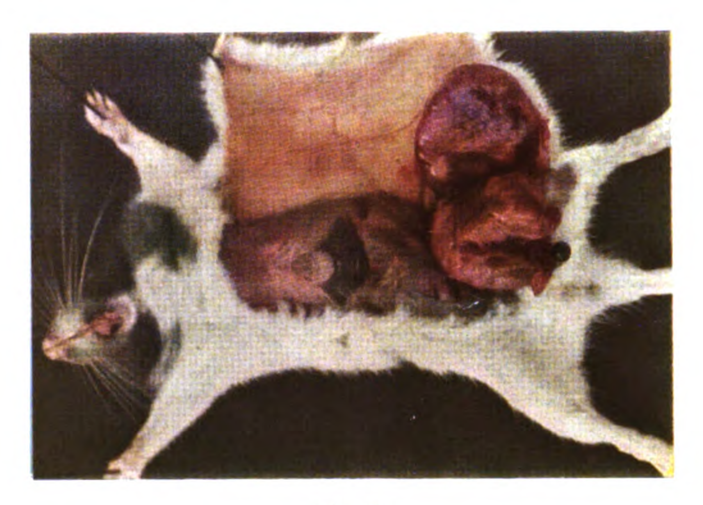


Fig. 3.
Rattensarkom. Der Tumor ist stark haemorrhagisch. Die Haemorrhagie erstrekt sich auf den ganzen Tumor.



Fig. 4.
Mäusecarcinom. Am oberen Ende des Tumors ist die Masse desselben erweicht, bröckelig.

Die mikroskopischen Präparate sind alle mit Haematoxylin-Eosin gefärbt worden. Alle Bilder sind nach farbigen (Lumière) Aufnahmen reproduziert worden.

Verlag von Georg Thieme in Leipzig.





Fig. 5.
Rattensarkom. Starke Haemorrhagie im Zentrum, Nekrosen an der Peripherie.



Fig. 6.
Geheilte Maus. An der Stelle, wo der Tumor saß, ist die Haut ganz dünn geworden.

Die mikroskopischen Präparate sind alle mit Haematoxylin-Eosin gefärbt worden. Alle Bilder sind nach farbigen (Lumière) Aufnahmen reproduziert worden.

Verlag von Georg Thieme in Leipzig.



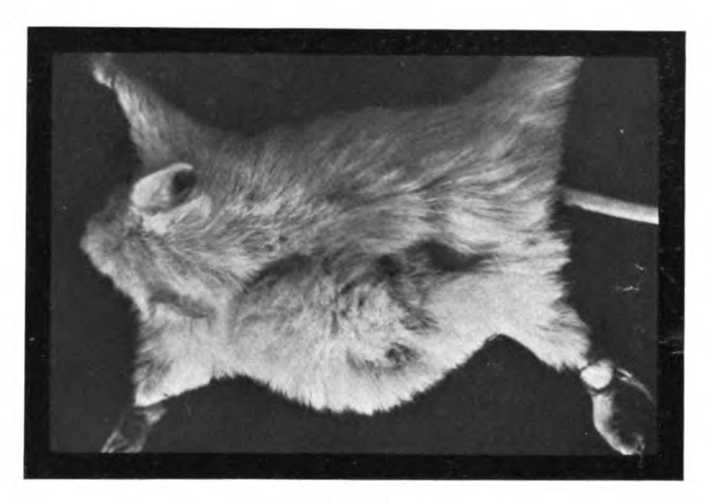


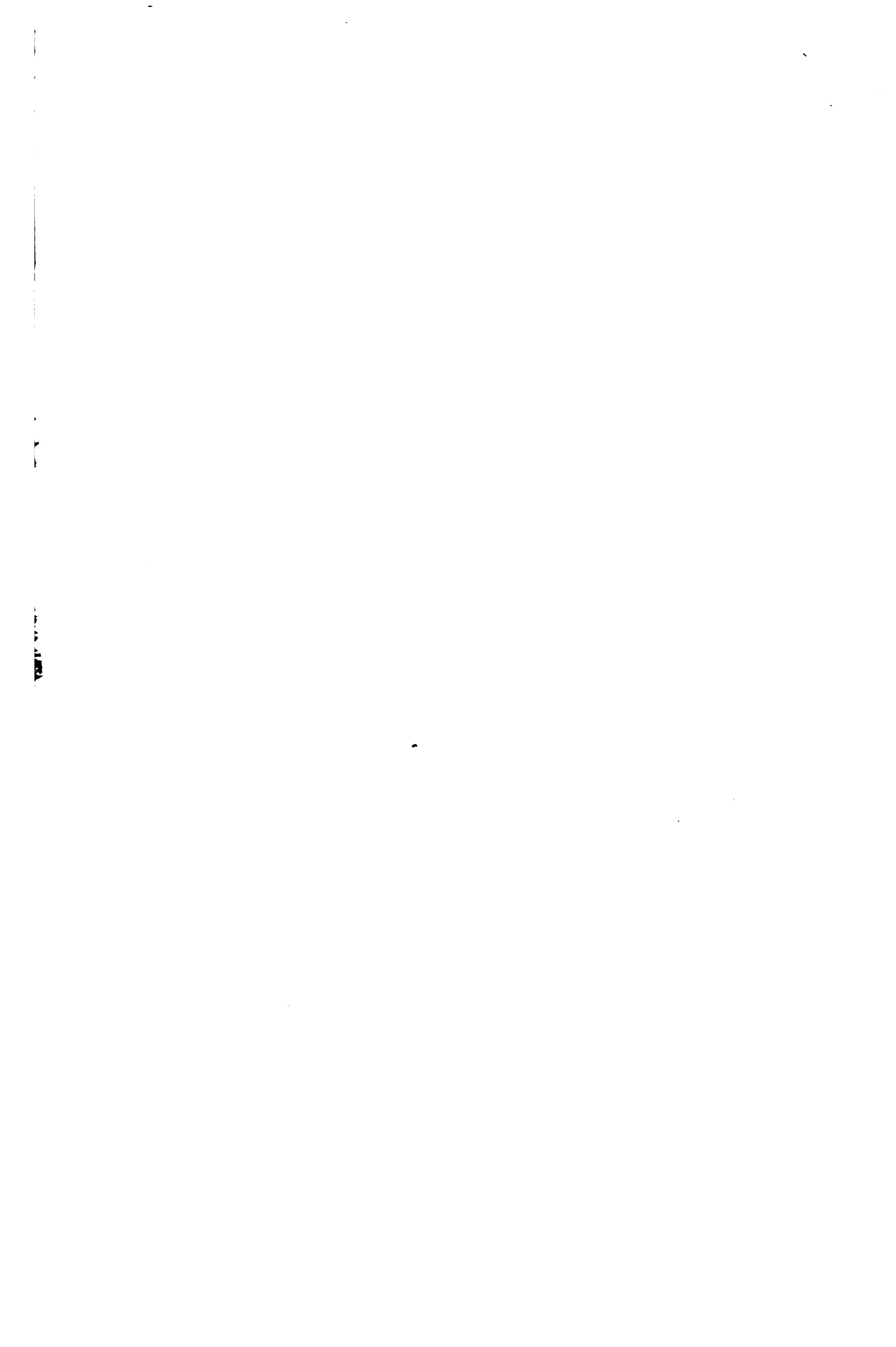
Fig. 7.
Eine Maus vor der Behandlung.



Fig. 8.
Dieselbe Maus nach der Behandlung.

Die mikroskopischen Präparate sind alle mit Haematoxylin-Eosin gefärbt worden. Alle Bilder sind nach farbigen (Lumière) Aufnahmen reproduziert worden.

Verlag von Georg Thieme in Leipzig.



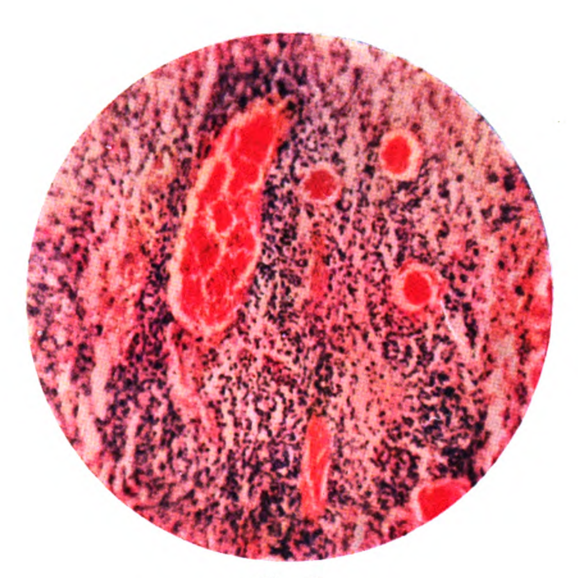


Fig. 9.
Rattensarkom, stark haemorrhagische Partie.

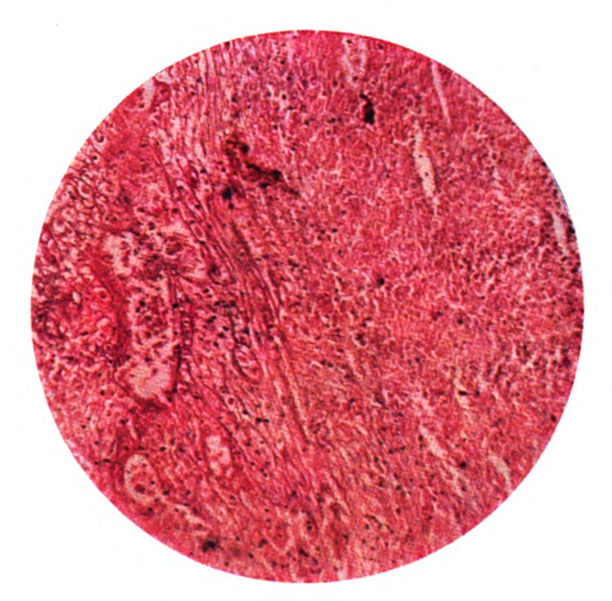
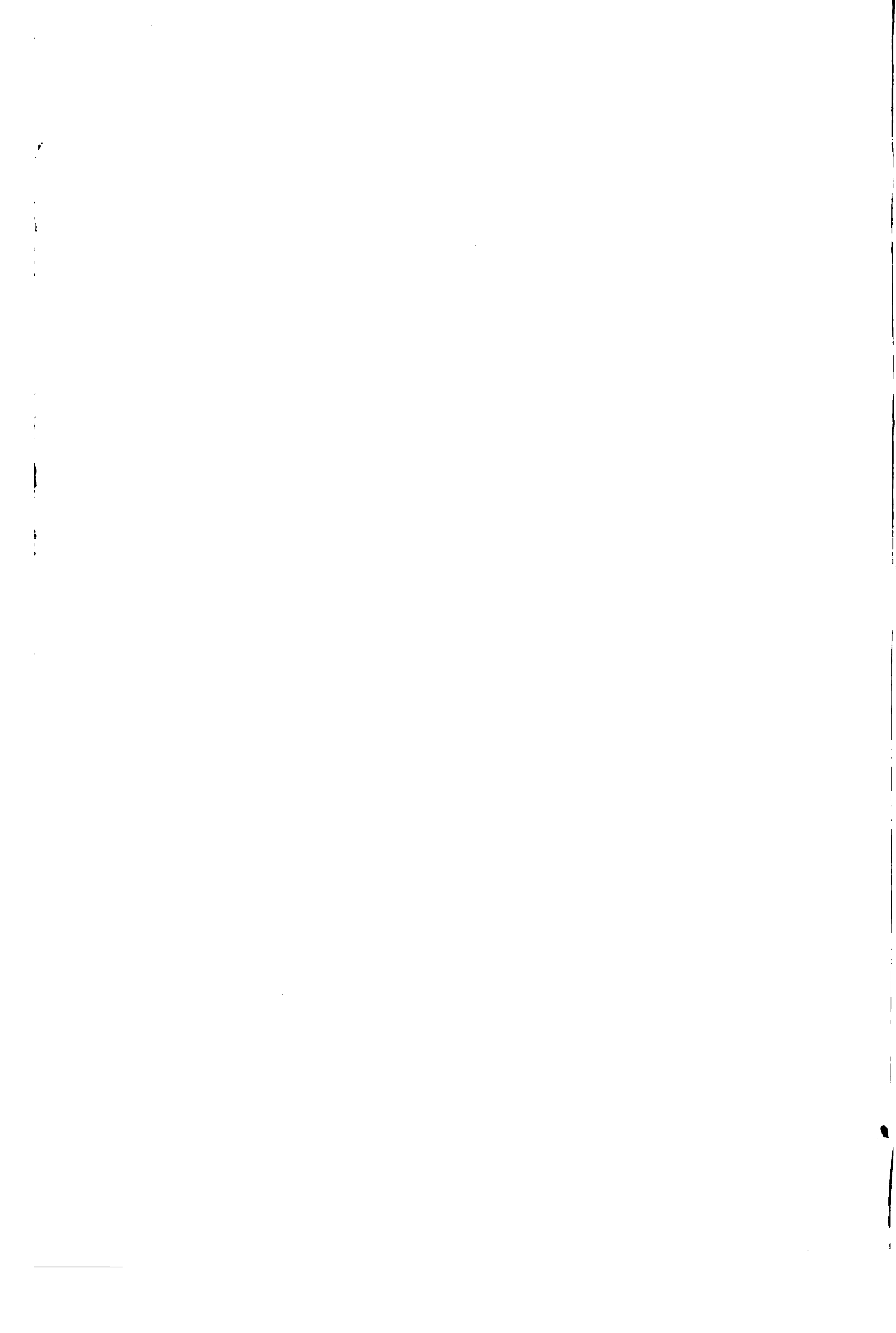


Fig. 10.
Dasselbe, nekrotische Partie.
Die Erklärung dieser beiden Präparate ergibt sich aus der Beschreibung im Text auf Seite 393—395.

Die mikroskopischen Präparate sind alle mit Haematoxylin-Eosin gefärbt worden. Alle Bilder sind nach farbigen (Lumière) Aufnahmen reproduziert worden.

Verlag von Georg Thieme in Leipzig.



Verlag von Georg Thieme in Leipzig.

Ärztliche Rechts- und Gesetzeskunde.

Herausgegeben von

Dr. O. Rapmund,
Regierungs- und Geheimer Medizinalrat
in Minden.

und

Dr. E. Dietrich,
Geh. Ober-Med.-Rat, vortr. Rat im Minist.
des Innern, Berlin.

Zweite völlig umgearbeitete und erweiterte Auflage.

Zwei Bände.

Gebunden M. 32.—.

Mit dem vorliegenden Werk haben die Autoren ein „umfassendes, den derzeitigen Stand der ärztlichen „Rechts- und Gesetzeskunde“ in Deutschland wiedergebendes Sammelwerk“ geschaffen, das in vorzüglicher Weise dem praktischen Arzt sich als Ratgeber in allen Lagen seiner Berufstätigkeit und des praktischen Lebens bewähren wird. *Desinfektion.*

Das Werk verdient zu den Klassikern gezählt zu verden und darf in keiner ärztlichen Bücherei fehlen. *Schlesische Aerzte-Korrespondenz.*

Das Werk kann jedem Arzte aufs wärmste empfohlen werden.
Berliner klinische Wochenschrift.

Grundriss der gerichtlichen Medizin

(einschl. Unfall- und Invalidenversicherung) für Ärzte und Juristen

mit besonderer Berücksichtigung der einschlägigen Entscheidungen des Reichsgerichts und des Reichsversicherungsamtes

von

Geh. Med.-Rat Dr. **R. Gottschalk,**
Kreisarzt in Rathenow.

Vierte vermehrte und verbesserte Auflage.

Gebunden M. 6.50.

Dieses Heft enthält eine Beilage der Chemischen Fabrik Dr. Klepfer, Dresden, betr.: „Jodglidine“.

Druck von C. Grumbach in Leipzig.

